

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA FRAKSI DARI EKSTRAK METANOL  
DAUN SENGGANI (*Melastoma candidum* D. Don) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhimurium* SERTA PROFIL  
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS FRAKSI TERAKTIF**

**Skripsi**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:  
Ida Liana  
NIM. M0406033

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2010**

**HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING**

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA FRAKSI DARI EKSTRAK METANOL  
DAUN SENGGANI (*Melastoma candidum* D. Don) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhimurium* SERTA PROFIL  
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS FRAKSI TERAKTIF**

Oleh:

Ida Liana

NIM M0406033

Telah disetujui oleh Tim Pembimbing

Tanda Tangan

Pembimbing I : Dr. Artini Pangastuti, M.Si  
NIP 197505312000032001

.....

Pembimbing II : Rita Rakhmawati, M. Si., Apt.  
NIP 198005102005012002

.....

Surakarta, April 2010

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi

Dra. Endang Anggarwulan, M. Si.  
NIP 195003201978032001

**PENGESAHAN**

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA FRAKSI DARI EKSTRAK METANOL  
DAUN SENGGANI (*Melastoma candidum* D. Don) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhimurium* SERTA PROFIL  
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS FRAKSI TERAKTIF**

Oleh :  
Ida Liana  
NIM M0406033

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
Pada tanggal 16 April 2010  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, April 2010

Penguji I

Penguji II

Dr. Okid Parama Astirin, M.S  
NIP 196303271986012002

Estu Retnaningtyas N, S.TP., M.Si.  
NIP 196807092005012001

Penguji III

Penguji IV

Rita Rakhmawati, M.Si., Apt.  
NIP 198005102005012002

Dr. Artini Pangastuti, M. Si.  
NIP 197505312000032001

Mengesahkan

Dekan FMIPA

Ketua Jurusan Biologi

Prof. Drs. Sutarno, M. Sc., Ph. D  
NIP 196008091986121001

Dra. Endang Anggarwulan, M.Si.  
NIP 195003201978032001

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila dikemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.

Surakarta, April 2010

Ida Liana  
NIM M0406033

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA FRAKSI DARI EKSTRAK METANOL  
DAUN SENGGANI (*Melastoma candidum* D. Don) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhimurium* SERTA PROFIL  
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS FRAKSI TERAKTIF**

**Ida Liana**

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Sebelas Maret, Surakarta

**ABSTRAK**

Pengendalian bakteri patogen penting dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, diantaranya dengan terapi antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik dengan dosis dan waktu terapi yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi bakteri. Oleh karena itu, diperlukan adanya penemuan senyawa-senyawa antimikroba baru yang dapat digunakan untuk mengendalikan bakteri patogen, diantaranya adalah metabolit sekunder dari Senggani (*Melastoma candidum* D. Don). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek antimikroba, nilai MIC dan nilai MBC dari fraksi teraktif ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*, serta mengetahui profil KLT fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun Senggani.

Pemisahan komponen bioaktif daun Senggani dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan dengan partisi padat-cair dengan pelarut eter, terakhir dilakukan fraksinasi dengan pelarut kloroform, etil asetat dan metanol dengan berbagai perbandingan. Uji antimikroba dilakukan dengan metode difusi Kirby-Bauer pada media MHA terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*, sedangkan penetapan nilai MIC dan MBC dilakukan dengan metode dilusi pada media MHB. Penentuan golongan senyawa kimia dilakukan dengan KLT terhadap fraksi teraktif menggunakan berbagai pereaksi semprot spesifik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun Senggani mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* pada F6 dan terhadap *Sa. typhimurium* pada F5. Baik F5 maupun F6 memiliki senyawa kimia yang termasuk dalam golongan tanin dan fenolat dengan harga Rf 9,40. Uji MIC dan MBC menunjukkan bahwa nilai MIC F6 terhadap *S. aureus* adalah 400 mg/mL, sedangkan nilai MBCnya tidak dapat ditentukan. Begitu pula dengan uji MIC dan MBC F5 terhadap *Sa. typhimurium*, nilai MIC dan MBC-nya tidak dapat ditentukan.

**Kata kunci:** *Melastoma candidum*, uji antimikroba, MIC dan MBC, fenol, tanin

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FRACTION FROM METHANOL  
EXTRACT OF SENGGANI (*Melastoma candidum* D. Don.) LEAVES  
TOWARDS *Staphylococcus aureus* AND *Salmonella typhimurium* AND  
THIN LAYER CHROMATOGRAPHY PROFILE OF THE MOST  
ACTIVE FRACTION**

**Ida Liana**

Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences  
Sebelas Maret University, Surakarta

**ABSTRACT**

Controlling pathogen bacteria is important to prevent the spread of disease and infection. One of the solution is by antibiotic therapy. However, the use of antibiotic with inappropriate dose and time can cause bacterial resistance. Therefore, it is necessary to discover new antimicrobial compounds which can be used to control pathogen bacteria. One of the new antimicrobial compounds is secondary metabolites of Senggani (*Melastoma candidum* D. Don). The aim of this research is to know antimicrobial effect, percentage of MIC and MBC from the most active fraction of Senggani leaves towards *S. aureus* and *Sa. typhimurium*, and to know the most active fraction KLT profile of methanol extract of Senggani leaves.

Separating bioactive components of Senggani leaves was done by macerating them with methanol solvent, then partitioning the solid and liquid matter using ether solvent, and fractionating them using chloroform, ethyl acetate and methanol solvent due to some proportions. Antimicrobial test was conducted using Kirby-Bauer diffusion method on MHA media towards *S. aureus* and *Sa. typhimurium*, whereas the determination of the percentage of MIC and MBC was conducted using dilution method on MHB media. The determination of chemical compounds group was done by KLT on the most active fraction using some specific spray reagents.

The result of the research showed that Senggani leaves have antimicrobial activity towards *S. aureus* on F6 and *Sa. typhimurium* on F5. Both F5 and F6 have chemical compounds which belong to phenolic group, that is tannin, with the value R<sub>f</sub> 9,40. MIC and MBC test shows that the percentage of MIC F6 towards *S. aureus* is 400 mg/mL, while the percentage of MBC can not be determined. Similarly, on MIC and MBC test towards *Sa. typhimurium*, the percentage MIC and MBC can not be determined.

**Keywords:** *Melastoma candidum*, antimicrobial test, MIC and MBC, phenols, tannins

## **MOTTO**

*Sesungguhnya shalatku, ibadahku, hidupku dan matiku hanyalah untuk Allah,  
Rabb semesta alam (Q.S. Al-An'am: 162)*

*Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah  
diusahakannya (Q.S. An-Najm: 39)*

*You can if you think you can! (Norman Vincent Peale)*

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk

*Allah SWT atas segala nikmat yang tak terhingga*

*Ibu, ayah, adik dan keluarga besar Dwijo Sukandi yang selalu memberikan dukungan dan doa terbaiknya, semoga saya selalu bisa memberikan yang terbaik untuk kalian*

*Keluarga besar Biologi 2006 dan Science Three Amity yang selalu memberikan doa terbaik, dukungan, semangat, dan kebersamaan yang indah selama ini*

*Semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini*



## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga dengan kerja keras penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antimikroba Fraksi dari Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum* D. Don) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* serta Profil Kromatografi Lapis Fraksi Teraktif”. Penyusunan skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam pelaksanaan penelitian maupun penyusunan skripsi ini penulis mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak yang sangat bermanfaat baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang setulusnya kepada:

Prof. Drs. Sutarno, M.Sc. Ph.D., selaku dekan FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta atas ijin penelitian untuk keperluan skripsi.

Dra. Endang Anggarwulan, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta atas ijin penelitian untuk keperluan skripsi.

Tim PHK A2 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 2009, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan melalui program *Research Grant* hingga selesainya penyusunan skripsi.

Dr. Marsusi, M.S. dan Dr. Edwi Mahadjoeno, M.Si, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, arahan serta dukungan selama penulis menempuh pendidikan di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dr. Artini Pangastuti, M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, arahan serta dukungan selama penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi.

Rita Rakhmawati, S.Farm, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan serta dukungan selama penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi.

Estu Retnaningtyas N., S.T.P. M.Si., selaku dosen penelaah I yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk selama penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi.

Dr. Okid Parama Astirin, MS., selaku dosen penelaah II yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk selama penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi.

Seluruh dosen, karyawan, staf Laboratorium Jurusan Biologi yang telah memberikan dukungan dan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Demikian semoga skripsi ini dapat berguna dan memberikan kontribusi dalam perkembangan IPTEKS, terutama dalam perkembangan penelitian mengenai eksplorasi dan penemuan senyawa bioaktif dari bahan alam sebagai antimikroba.

Surakarta, April 2010

Penulis

## DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
HALAMAN MOTTO.....	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	viii
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. LANDASAN TEORI.....	5
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Senggani ( <i>Melastoma candidum</i> D. Don.).....	5
a. Klasifikasi.....	6
b. Sinonim.....	6
c. Nama Daerah.....	6
d. Habitus Senggani.....	6
e. Manfaat dan Kandungan Kimia Senggani.....	8
2. Pemisahan Komponen Bioaktif dengan Ekstraksi Partisi dan Fraksinasi.....	9
3. Kromatografi Lapis Tipis.....	11
4. Mekanisme Penghambatan Senyawa Antimikroba.....	12
5. Bakteri Patogen.....	15
B. Kerangka Pemikiran.....	20
C. Hipotesis.....	24
BAB III. METODE PENELITIAN.....	25
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
B. Alat Penelitian.....	25
1. Alat untuk Ekstraksi Partisi dan Fraksinasi.....	25
2. Alat untuk Uji Antimikroba.....	25
C. Bahan Penelitian.....	25
1. Bahan Utama.....	25

2. Bahan untuk Ekstraksi Partisi dan Fraksinasi.....	25
3. Bahan untuk Kromatografi Lapis Tipis dan Penentuan Golongan Senyawa.....	26
4. Bahan untuk Uji Antimikroba serta Uji MIC dan MBC ....	26
D. Cara Kerja.....	26
1. Penyiapan Sampel.....	26
2. Penyiapan Bakteri Uji.....	26
3. Pemisahan komponen Bioaktif.....	27
a. Ekstraksi.....	27
b. Partisi.....	28
c. Fraksinasi.....	28
4. Uji Antimikroba terhadap Pertumbuhan <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	29
5. Kromatografi Lapis Tipis dan Penentuan Golongan Senyawa Kimia.....	30
6. Uji MIC dan MBC.....	32
E. Analisis Data.....	35
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
A. Penyiapan Bahan.....	36
B. Ekstraksi dan Uji Antimikroba Ekstrak.....	37
C. Partisi dan Uji Antimikroba Hasil Partisi.....	44
D. Fraksinasi dan Uji Antimikroba Hasil Fraksinasi.....	48
E. Uji MIC dan MBC Fraksi Teraktif.....	53
F. Deteksi Golongan Senyawa Fraksi Teraktif.....	56
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	64
A. Kesimpulan.....	64
B. Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA.....	65
LAMPIRAN.....	71
RIWAYAT HIDUP PENULIS.....	84

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak metanol daun Senggani terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	40
Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat hasil partisi dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	46
Tabel 3. Fraksi gabungan bagian tidak larut eter dari ekstrak metanol daun Senggani.....	50
Tabel 4. Hasil pengukuran zona hambat fraksi daun Senggani terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> pada konsentrasi 300 mg/mL.....	52
Tabel 5. Hasil pengukuran absorbansi pada uji MIC dan MBC F5 terhadap <i>Sa. typhimurium</i> .....	54
Tabel 6. Hasil pengukuran absorbansi pada uji MIC dan MBC F6 terhadap <i>S. aureus</i> .....	55
Tabel 7. Hasil uji golongan senyawa kimia pada F5 dan F6.....	57

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tumbuhan Senggani.....	7
Gambar 2. Alur kerangka pemikiran.....	23
Gambar 3. Mekanisme kerja penelitian.....	34
Gambar 4. Hasil uji antimikroba ekstrak metanol konsentrasi 800 dan 900 mg/mL terhadap <i>S. aureus</i> , ekstrak metanol konsentrasi 900 dan 1000 mg/mL terhadap <i>S. aureus</i> , ekstrak metanol konsentrasi 800 dan 900 mg/mL terhadap <i>Sa. typhimurium</i> dan ekstrak metanol konsentrasi 900 dan 1000 mg/mL terhadap <i>Sa. typhimurium</i> .....	42
Gambar 5. Kromatogram bagian larut dan tidak larut eter dengan deteksi UV <sub>254</sub> , UV <sub>366</sub> dan serium (IV) sulfat.....	44
Gambar 6. Hasil uji antimikroba bagian tidak larut eter konsentrasi 900 mg/mL dan kontrol metanol terhadap <i>S. aureus</i> , bagian tidak larut eter konsentrasi 900 mg/mL dan kontrol CMC (1 mg/mL) terhadap <i>S. aureus</i> , serta bagian larut eter 700 mg/mL terhadap <i>Sa. typhimurium</i> .....	47
Gambar 7. Kromatogram fraksi daun Senggani dengan deteksi sinar visibel, UV <sub>254</sub> , UV <sub>366</sub> , dan serium (IV) sulfat.....	49
Gambar 8. Kromatogram enam fraksi daun Senggani dengan deteksi sinar visibel, UV <sub>254</sub> , UV <sub>366</sub> , dan serium (IV) sulfat.....	51
Gambar 9. Kromatogram F5 dengan deteksi UV <sub>254</sub> , UV <sub>366</sub> , FeCl <sub>3</sub> , AlCl <sub>3</sub> , Vanilin H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , SbCl <sub>3</sub> , Lieberman-Burchad dan serium (IV) sulfat.....	58
Gambar 10. Kromatogram F6 dengan deteksi UV <sub>254</sub> , UV <sub>366</sub> , FeCl <sub>3</sub> , AlCl <sub>3</sub> , Vanilin H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , SbCl <sub>3</sub> , Lieberman-Burchad dan serium (IV) sulfat.....	59
Gambar 11. Struktur bangun $\alpha$ -amyrin dan quercetin (R= H) serta quercitrin (R=Rha).....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil perhitungan kurva standar <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	71
Lampiran 2. Hasil uji antimikroba ekstrak metanol daun Senggani terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	72
Lampiran 3. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak metanol daun Senggani terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	74
Lampiran 4. Hasil uji antimikroba bagian tidak larut eter terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	75
Lampiran 5. Hasil pengukuran zona hambat bagian tidak larut eter terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	77
Lampiran 6. Hasil uji antimikroba bagian larut eter terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	78
Lampiran 7. Hasil pengukuran zona hambat bagian larut eter terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	80
Lampiran 8. Hasil uji antimikroba fraksi terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	81
Lampiran 9. Hasil pengukuran zona hambat fraksi terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>Sa. typhimurium</i> .....	82
Lampiran 10. Surat keterangan determinasi Senggani.....	83

## DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Kepanjangan
ATCC	<i>american type culture collection</i>
CFU	<i>colony forming unit</i>
CMC	<i>carboxyl methyl cellulose</i>
dpl	di atas permukaan laut
GF	<i>gypsum fluorescence</i>
KLT	kromatografi lapis tipis
LAF	<i>laminar air flow</i>
LPS	lipopolisakarida
MBC	<i>minimum bactericidal concentration</i>
MIC	<i>minimum inhibitory concentration</i>
NA	<i>nutrient agar</i>
NB	<i>nutrient broth</i>
MHA	<i>mueller hinton agar</i>
MHB	<i>mueller hinton broth</i>
nm	nanometer
Rf	<i>retardation factor</i>
rpm	<i>rounds per minute</i>
UV	<i>ultra violet</i>
VLC	<i>vacuum liquid chromatography</i>



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

*Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* merupakan bakteri patogen, yaitu bakteri yang memiliki kemampuan menimbulkan penyakit pada manusia. Pengendalian bakteri patogen penting dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, serta membasmi bakteri patogen pada inang yang terinfeksi. Bakteri patogen dapat dihambat pertumbuhannya atau dibunuh dengan proses fisik (misalnya dengan pemanasan) atau bahan kimia (misalnya dengan antibiotik).

Terapi antibiotik beberapa tahun lalu dinyatakan berhasil dalam mengatasi penyebaran bakteri patogen. Akan tetapi, penggunaan antibiotik dengan dosis dan waktu terapi yang tidak tepat dapat menimbulkan masalah tersendiri, yaitu resistensi bakteri. Pada tahun 1944 hampir seluruh *Staphylococcus* yang diisolasi dari rumah sakit sensitif terhadap antibiotik penisilin, tetapi pada tahun 1948 sekitar 65%-85% menjadi resisten terhadap penisilin-G karena banyaknya penggunaan preparat penisilin di rumah sakit. Pada tahun 1984, *Staphylococcus* resisten penisilin tidak hanya ditemukan di rumah sakit, tetapi juga pada 80% *Staphylococcus* yang diisolasi dari masyarakat (Sjahrurrahman *et al.*, 1999, Jawetz *et al.*, 2001). Selain itu, *S. aureus* yang diisolasi dari susu segar kambing kini juga resisten terhadap tetrasiklin sefotaksim, ampicilin dan eritromisin (Purnomo *et al.*, 2006). Ada pula strain *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin

yaitu strain *Meticillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Strain ini juga resisten terhadap sparfloksasin, sefaklor, asam nalidiksat dan eritromisin (Sjahrurrahman *et al.*, 1999, Mycek *et al.*, 2001, Syarif *et al.*, 2001).

Bakteri *Salmonella* pada binatang juga berkembang menjadi resisten, terutama terhadap tetrasiklin yang digunakan dalam makanan ternak. *Sa. typhi* strain *Multi Drug Resistance* (MDR) resisten terhadap dua atau lebih jenis antibiotik yang sering digunakan, yaitu amphisilin, kloramfenikol, dan kotrimoksazol (Mycek *et al.*, 2001, Hadinegoro, 1999). Mengacu pada permasalahan di atas, diperlukan adanya penemuan senyawa-senyawa antimikroba baru yang dapat digunakan untuk mengendalikan bakteri patogen, diantaranya adalah senyawa metabolit sekunder dari Senggani (*Melastoma candidum* D. Don).

Menurut Retnaningtyas dan Mulyani (2008), ekstrak metanol daun Senggani dengan konsentrasi 20-100% memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambatan sebesar 17,44-23,99 mm terhadap *S. aureus*, serta memiliki aktivitas penghambatan yang kuat hingga sangat kuat terhadap pertumbuhan beberapa bakteri lain seperti *Sa. typhi*, *Bacillus subtilis*, *Shigella dysentriae*, dan *E. coli*. Wang dan Hsu (2007) juga melaporkan bahwa ekstrak aseton daun Senggani memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus*. Daun Senggani memiliki kandungan senyawa golongan tanin terhidrolisis yaitu Nobotanin B yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Helicobacter pylori* (Funatogawa *et al.*, 2004). Selain tanin, kandungan kimia daun Senggani yang telah diketahui antara lain flavonoid dan saponin (Hariaman, 2008, Sentra Informasi IPTEK, 2009).

Flavonoid yang merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan penghambatan terhadap sintesis dinding sel (Mojab *et al.*, 2008). Flavonoid yang merupakan senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwijoseputro, 1994). Protein yang menggumpal tidak akan dapat berfungsi lagi sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Pada konsentrasi yang biasa digunakan (larutan dalam air 1-2%), fenol dan derivatnya menimbulkan denaturasi protein (Jawetz *et al.*, 2001). Saponin merupakan zat hemolitik yang kuat serta memiliki sifat seperti sabun. Saponin juga bersifat spermisida, antimikrobia, antiperadangan dan memiliki aktivitas sitotoksik (Tjay dan Rahardja, 2002). Kandungan senyawa kimia lain, yaitu tanin, mempunyai sifat sebagai pengelat berefek spasmolitik, yang dapat mengerutkan membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Ajizah, 2004).

Penelitian ini dilakukan untuk memisahkan komponen bioaktif dari daun Senggani, sehingga diperoleh fraksi yang memiliki aktivitas penghambatan lebih kuat terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*. Diharapkan pula dapat ditentukan nilai kadar minimal fraksi aktif yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dan kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh bakteri atau *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)*.

## **B. Perumusan Masalah**

- a. Bagaimanakah efek antimikroba fraksi dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*?
- b. Berapakah nilai MIC dan MBC fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*?
- c. Bagaimanakah profil Kromatografi Lapis Tipis fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun Senggani?

## **C. Tujuan Penelitian**

- a. Mengetahui efek antimikroba fraksi dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.
- b. Mengetahui nilai MIC dan MBC fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.
- c. Mengetahui profil Kromatografi Lapis Tipis fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun Senggani.

## **D. Manfaat Penelitian**

- a. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah dan pengetahuan terutama dalam bidang eksplorasi dan penemuan senyawa bioaktif dari bahan alam.
- b. Dapat diperoleh fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun Senggani yang berpotensi sebagai antimikroba.
- c. Pemanfaatan Senggani sebagai obat diharapkan dapat membantu usaha pemerintah/kalangan industri dalam pengembangan obat dari bahan alam yang dapat mendukung kemajuan bidang IPTEKS dan kesehatan.

## **BAB II**

### **LANDASAN TEORI**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

Polisakarida, protein, lemak dan asam nukleat merupakan penyusun utama dari makhluk hidup, karena itu disebut metabolit primer. Keseluruhan proses sintesis dan perombakan zat-zat ini yang dilakukan organisme untuk kelangsungan hidupnya disebut proses-proses metabolisme primer. Metabolisme primer dari semua organisme sama, walaupun sangat berbeda genetiknya. Proses-proses kimia jenis lain terjadi hanya pada organisme tertentu sehingga memberikan produk yang berlainan sesuai dengan spesiesnya. Reaksi yang demikian disebut sebagai proses metabolisme sekunder. Meskipun tidak penting bagi eksistensi suatu individu, metabolit sekunder sering berperan pada kelangsungan hidup suatu spesies dalam perjuangan menghadapi spesies-spesies lain (Manitto, 1992).

#### **1. Senggani (*Melastoma candidum* D. Don)**

Menurut Starr *et al.* (2003), nama *Melastoma* berasal dari bahasa Yunani. "Melas" artinya hitam dan "stoma" artinya mulut. Penamaan ini didasarkan pada timbulnya warna hitam pada tepi mulut ketika seseorang memakannya. Tumbuhan ini dapat ditemukan di Madagaskar, India sampai Australia, tetapi juga dapat dengan mudah ditemui di Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Berikut adalah penjelasan tentang tumbuhan Senggani.

**a. Klasifikasi**

Divisi : Spermatophyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledonae  
Ordo : Myrtales  
Famili : Melastomataceae  
Genus : *Melastoma*  
Spesies : *Melastoma candidum* D. Don (Backer dan Bakhuizen, 1968)

**b. Sinonim**

*Melastoma septemnervium* Lour., *M. malabathricum* Auct. non., Linn., *M. polyanthum*, Bl. (Renner dan Meyer, 2001, Ryu *et al.*, 2001, Starr *et al.*, 2003).

**c. Nama daerah**

Harendong (Sunda), Kluruk, Senggani (Jawa), Senduduk (Sumatera/Melayu), Kemanden (Madura), Yeh mu tan (China), Asian melastome (Inggris) (Starr *et al.*, 2003, Prianto *et al.*, 2006, Hariaman, 2008, Sentra informasi IPTEK, 2009).

**d. Habitus Senggani**

Senggani tumbuh liar pada tempat-tempat yang mendapat cukup sinar matahari, seperti di lereng gunung, semak belukar, lapangan yang tidak terlalu gersang, atau di daerah obyek wisata sebagai tanaman hias. Tumbuhan ini bisa ditemukan sampai ketinggian 1.650 m dpl (Sentra informasi IPTEK, 2009, Starr *et al.*, 2003).

Senggani berupa perdu atau pohon kecil. Batangnya berkayu, berwarna cokelat, tegak setinggi 1,5-5 m dengan percabangan simpodial. Daunnya tunggal, bertangkai, letaknya berhadapan bersilang. Helai daun berwarna hijau, berbentuk bulat telur dengan panjang 2-20 cm dan lebar 1-8 cm, memiliki ujung dan pangkal daun runcing, bagian tepi daun rata, permukaannya berambut pendek yang jarang dan kaku sehingga teraba kasar dengan 3 tulang daun yang melengkung, dengan panjang petiolus 5-12 mm (Backer dan Bakhuizen, 1968, Starr *et al.*, 2003). Tumbuhan Senggani seperti tampak pada Gambar 1.



Gambar 1. Tumbuhan Senggani (Stemmermann, 2009)

Perbungaannya majemuk, keluar di ujung cabang berupa malai rata dengan jumlah bunga tiap malai 2-7, kelopak berlekatan, memiliki jumlah mahkota 5, warnanya ungu kemerahan, berbulu, dengan daun pelindung dan bersisik. Benang sari berwarna merah muda dengan jumlah 8-12, panjangnya sekitar 3 cm, memiliki satu putik, kepala putik berbintik hijau, bakal buah beruang 4-6. Buah buni berbentuk bulat telur, yang masak akan merekah dan berbagi dalam beberapa

bagian, warnanya ungu tua kemerahan dengan biji kecil-kecil berwarna cokelat (Starr *et al.*, 2003, Sentra informasi IPTEK, 2009).

#### **e. Manfaat dan Kandungan Kimia Senggani**

Senggani berkhasiat untuk mengatasi gangguan pencernaan makanan (dispepsi), disentri basiler, diare, hepatitis, keputihan (leukorea) dan sariawan. Selain itu Senggani juga sering dimanfaatkan untuk mengatasi darah haid berlebihan, perdarahan rahim diluar waktu haid, mimisan, berak darah (melena), wasir berdarah, radang dinding, pembuluh darah disertai pembekuan darah di dalam salurannya (tromboangitis), air susu ibu (ASI) tidak lancar, keracunan singkong, mabuk minuman keras, busung air, kudis dan bisul (Winarno dan Sundari, 1996, Hariaman, 2008, Hossan., *et al.*, 2009, Sentra Informasi IPTEK, 2009).

Senggani memiliki berbagai kandungan kimia, terutama pada bagian daunnya. Kandungan kimia yang dimiliki daun Senggani antara lain saponin, flavonoid dan tanin terhidrolisis yang biasa disebut dengan Nobotanin B (Funatogawa *et al.*, 2004, Hariaman, 2008, Sentra Informasi IPTEK, 2009). Bunga Senggani mengandung kaempferol, antosianin, tanin, asam lemak dan sterol (Ali *et al.*, 2003, Janna *et al.*, 2006, See, 2008).

Senyawa-senyawa tanin merupakan senyawa-senyawa alami dengan bobot molekul antara 500 dan 3000, serta mempunyai sejumlah gugus hidroksi fenolik dan dapat membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan bipolimer yang lain. Tanin berdasarkan tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam dapat digolongkan menjadi dua golongan, yaitu tanin terhidrolisis



dan tannin terkondensasi. Tanin yang terhidrolisis tersebar luas dalam jaringan tumbuhan (Manitto, 1992).

Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzen yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Senyawa-senyawa flavonoid biasanya terdapat dalam sel-sel jaringan dalam bunga (Manitto, 1992).

Flavonoid terdapat secara universal pada tumbuhan sebagai kelompok tunggal senyawa cincin oksigen yang terbesar. Flavonoid terdapat dalam berbagai warna pada jaringan tumbuhan, dan rotenoid misalnya, memiliki sifat insektisidal (Herbert, 1995). Kandungan flavonoid yang merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Oleh karena itu flavonoid merupakan komponen antimikroba yang potensial (Mojab *et al.*, 2008).

Senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Katzung, 1989, Dwijoseputro, 1994). Protein yang menggumpal tidak akan dapat berfungsi lagi sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Fenol merupakan unsur-unsur antimikroba yang kuat. Pada konsentrasi yang biasa digunakan (larutan dalam air 1-2%), fenol dan derivatnya menimbulkan denaturasi protein (Jawetz *et al.*, 2001).

## **2. Pemisahan Komponen Bioaktif dengan Ekstraksi Partisi dan Fraksinasi**

Ekstraksi suatu senyawa dalam tumbuhan dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, sokletasi dan destilasi uap. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur

ruangan. Proses ini sangat menguntungkan karena dengan perendaman maka pada sampel tumbuhan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam tersebut (Lenny, 2006).

*Vacuum Liquid Chromatography* atau kromatografi cair vakum adalah kromatografi kolom yang dipercepat dan bekerja pada kondisi vakum. Prinsip yang digunakan adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), menguap (keatsirian), dan melekat pada permukaan serbuk labus (adsorpsi, penyerapan). Modifikasi kromatografi cair yang dibantu dengan menggunakan vakum dapat diaplikasikan untuk memperoleh beberapa fraksi dalam waktu yang cepat dan tidak menggunakan fase diam serta fase gerak yang terlalu banyak (Pelletier *et al.*, 1986, Coll dan Bowden, 1986, Pieter dan Vlietinck, 1989).

Kolom kromatografi dikemas kering (biasanya dengan penjerap mutu KLT 10-40  $\mu\text{m}$ ) dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penjerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap dipakai. Cuplikan dilarutkan ke dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom atau pada lapisan penjerap dan dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Oleh karena itu kromatografi vakum cair

menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak (Hostettmann *et al.*, 1995).

### **3. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berbentuk bercak atau pita (awal), kemudian pelat dimasukkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Senyawa yang tidak berwarna selanjutnya harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

Fase diam yang digunakan dalam KLT adalah bahan penyerap. Penyerap yang umum adalah silika gel, aluminium oksida, selulosa, kiselgur, selulosa dan turunannya. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada hal tersebut. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya (Sastrohamidjojo, 1991, Rohman, 2007).

Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara naik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan menurun (*descending*) (Rohman, 2007). Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak di dalam fase diam karena adanya gaya

kapiler. Laju rambat tergantung kepada viskositas pelarut dan struktur lapisan (misalnya butiran penyerap). Agar pemisahan baik dan *reproducible* perlu diperhatikan pemilihan kondisi kerja yang meliputi sifat pengembangan, kejenuhan bejana dan lain-lain (Stahl, 1985, Hostettmann *et al.*, 1995).

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Terdapat berbagai kemungkinan untuk deteksi senyawa tak berwarna pada kromatogram. Deteksi paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan di daerah Ultra Violet (UV) gelombang pendek (radiasi utama pada kira-kira 254 nm) atau jika senyawa tersebut dapat dieksitasi ke fluoresensi radiasi UV gelombang pendek dan atau gelombang panjang (366 nm). Jika dengan kedua cara itu senyawa tidak dapat dideteksi, maka harus dicoba dengan menggunakan reaksi kimia. Pada sistem KLT dikenal istilah kecepatan rambat suatu senyawa yang diberi simbol  $R_f$  (*retardation factor*). Harga  $R_f$  ditentukan oleh jarak rambat senyawa dari titik awal dan jarak rambat fase gerak dari titik awal. Harga  $R_f$  ini dapat digunakan untuk identifikasi senyawa yang dianalisa. Penentuan harga  $R_f$  adalah sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak perambatan bercak dari titik awal}}{\text{Jarak perambatan fase gerak dari titik awal}}$$

(Stahl, 1985, Fessenden, 1993, Rohman, 2007)

#### **4. Mekanisme Kerja Penghambatan Senyawa Antimikroba**

Antimikroba ialah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Menurut Jawetz *et al.* (2001) dan Syarif *et al.* (2001), suatu zat antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif. Istilah ini secara tidak

langsung menyatakan suatu obat berbahaya terhadap parasit tetapi tidak berbahaya bagi inangnya.

Mekanisme kerja antimikroba menurut Katzung (1989), Williams *et al.*, (1996), Jawetz *et al.* (2001) dan Syarif *et al.* (2001) dibagi menjadi beberapa cara:

1. Hambatan sintesis dinding sel,
2. Perubahan permeabilitas membran sel atau penghambatan pengangkutan aktif melalui membran sel,
3. Hambatan sintesis protein,
4. Hambatan sistesis asam nukleat sel, serta
5. Hambatan terhadap metabolisme mikroba.

Antimikroba dapat bekerja secara bakterostatik maupun bakterisidal. Bakteriostatik memiliki arti memiliki kemampuan menghambat multiplikasi bakteri. Multiplikasi akan berlangsung lagi jika unsur tersebut tiada. Bakterisidal memiliki sifat mematikan bakteri. Aksi bakterisidal berbeda dalam hal tidak dapat dipulihkan lagi, yaitu bakteri yang dimatikan tidak dapat lagi bermultiplikasi meskipun sudah tidak ada hubungan lagi dengan unsur itu (Jawetz *et al.*, 2001, Mycek *et al.*, 2001, Syarif *et al.*, 2001).

Menurut Sudjaswadi (2006), efektivitas senyawa antimikroba dipengaruhi oleh karakter dinding sel atau membran sel dari bakteri tersebut. Penetrasi obat melalui membran yang lebih cepat dan jumlah yang lebih besar segera menginisiasi efek menghambat reaksi sintesis protein dalam inti sel mikroorganisme.

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam uji antimikroba. Metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Metode lubang (sumuran) yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri (Kusmiyati, 2007).

Pengujian dilakukan dengan mengukur zona hambatan yang berwarna bening pada gel. Menurut Davis dan Stout (1971) bila diameter daerah hambatan 5 mm atau kurang maka aktifitas penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat, dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)* (Syarif *et al.*, 2001). Nilai MIC dapat ditentukan dengan metode penipisan (*dilution method*), yaitu dengan melakukan suatu seri pengenceran senyawa yang akan diuji di dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan bakteri yang akan diperiksa dengan dosis

tertentu. Lalu ditentukan batas atau dosis terkecil yang dapat menghambat tumbuhnya bakteri, yang disebut MIC. Bakteri dalam tabung yang tidak menunjukkan pertumbuhan dapat disubkultur dalam media tanpa senyawa uji untuk menentukan apakah hambatan ini reversible atau permanen. Dengan cara ini dapat ditentukan pula nilai MBC (Sujudi, 1983, Rostinawati, 2007, Dewanjee *et al.*, 2008).

## **5. Bakteri Patogen**

Patogenitas merupakan kemampuan organisme untuk menimbulkan penyakit (Pelczar dan Chan, 1988). Jadi, bakteri patogen merupakan bakteri-bakteri yang memiliki kemampuan untuk menimbulkan penyakit pada manusia. Berikut adalah dua bakteri patogen pada manusia.

### *a. Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan sel berbentuk bola, gram positif, berwarna kuning emas, biasanya tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur. Di bawah pengaruh zat-zat kimia tertentu (misalnya penisilin) bakteri ini dilisiskan atau berubah menjadi bentuk L. *Staphylococcus* mudah tumbuh pada kebanyakan perbenihan bakteriologi dalam keadaan aerobik maupun mikro-aerobik. *Staphylococcus aureus* tumbuh paling cepat pada 37°C tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C). *Staphylococcus* biasanya terdapat di berbagai bagian tubuh manusia termasuk hidung, tenggorokan, kulit, dan karenanya mudah memasuki makanan (Pelczar dan Chan, 1988, Jawetz *et al.*, 2001). *Staphylococcus aureus* juga terdapat pada 23,08% isolat susu segar dari kambing (Purnomo *et al.*, 2006).

*Staphylococcus* dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus* relatif resisten terhadap pengeringan, terhadap panas (bakteri ini tahan 50°C selama 30 menit) dan terhadap 9% natrium klorida (Jawetz *et al.*, 2001).

Diantara semua bakteri yang tidak membentuk spora, maka *S. aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Pada agar miring dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah dapat tetap hidup selama 6-14 minggu (Pelczar dan Chan, 1988). Pada manusia, *S. aureus* dapat menimbulkan berbagai macam penyakit, diantaranya bisul borok, *impetigo* (penyakit kulit yang gatal, menimbulkan bisul berisi nanah), pneumonia, osteomielitis, meningitis, mastitis, bakteremia, keracunan makanan, infeksi urogenital dan sindrom syok toksik (Cullimore, 2000, Jawetz *et al.*, 2001). *Staphylococcus aureus* juga mempunyai sifat dapat merusak plasma darah hospes (Purnomo *et al.*, 2006).

Jawetz *et al.*, (2001) menyatakan bahwa *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berbiak dan melalui pembentukan banyak zat ekstraseluler. Zat-zat ekstraseluler yang dihasilkan oleh *S. aureus* diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Eksotoksin, yaitu suatu campuran termolabil yang dapat disaring dan mematikan bagi banyak binatang pada penyuntikan, menyebabkan nekrosis pada kulit dan mengandung beberapa hemolisin yang dapat



larut dan dapat dipisahkan dengan elektroforesis. Eksotoksin C yang dihasilkan *S. aureus* seringkali dihubungkan dengan sindrom syok toksik.

2. Lekosidin, suatu zat yang dapat larut dan mematikan sel darah putih dari pelbagai spesies binatang yang berkontak dengannya. Lekosidin bersifat antigen tetapi tidak tahan panas daripada eksotoksin.
3. Enterotoksin, merupakan suatu zat dapat larut yang dihasilkan oleh strain-strain tertentu *Staphylococcus* diantaranya *S. aureus*. Enterotoksin adalah suatu protein dengan berat molekul  $3,5 \times 10^4$ , yang tahan terhadap pendidihan selama 30 menit atau enzim-enzim usus dan termasuk salah satu dari enam tipe antigen. Sebagai penyebab keracunan makanan, enterotoksin dihasilkan bila *S. aureus* tumbuh pada makanan karbohidrat dan protein.
4. Koagulase. Berdasarkan definisi, *S. aureus* dapat menghasilkan koagulase, yaitu suatu protein yang menyerupai enzim dan dapat menggumpalkan plasma oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam banyak serum. Koagulase dapat mengendapkan fibrin pada permukaan *Staphylococcus*, mungkin mengubah dimakannya bakteri oleh sel-sel fagositik atau perusakannya dalam sel-sel demikian. Hasil koagulase dianggap sinonim dengan potensial patogenik invasif.
5. Zat-zat ekstraseluler lain, misalnya hialurodinase atau faktor penyebar; stafilokinase yang mengakibatkan fibrinolisa tetapi bekerja jauh lebih

lambat daripada streptokinase proteinase, lipase dan  $\beta$ -laktamase; toksin eksofoliatif yang menyebabkan sindroma *scalded skin* di bawah pengaruh plasmid dan suatu toksin yang bertanggung jawab untuk sindrom syok toksik yang paling sering diemukan pada wanita yang menggunakan tampon pada saat haid.

Dinding sel bakteri gram positif, termasuk pada *Staphylococcus*, terdiri atas peptidoglikan yang sangat tebal dan memberikan kekakuan untuk mempertahankan keutuhan sel. Proses perakitan dinding sel diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida dan menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Jika ada kerusakan pada dinding sel atau ada hambatan dalam pembentukannya dapat terjadi lisis pada sel bakteri sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan membentuk koloni dan diikuti dengan kematian sel bakteri (Morin dan Gorman, 1995).

Pemberian antimikroba pada *S. aureus* dapat menghambat perakitan dinding sel dan mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung silang ke dalam peptidoglikan dinding sel menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kematian bakteri (Morin dan Gorman, 1995). Tekanan dalam pada bakteri gram positif 3-5 kali lebih besar daripada bakteri gram negatif. Kerusakan pada dinding sel atau hambatan pada pembentukannya dapat berakibat lisis pada sel (Jawetz *et al.*, 2001). Lisisnya sel bakteri tersebut dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri (Ajizah *et al.*, 2007).

b. *Salmonella typhimurium*

*Salmonella typhimurium* adalah bakteri gram negatif, tidak berspora, panjangnya bervariasi dan bergerak dengan spora. *Salmonella typhimurium* tumbuh cepat pada perbenihan biasa tetapi tidak meragikan sukrosa atau laktosa. Bakteri ini merupakan asam dan beberapa gas dari glukosa dan manosa. Bakteri ini cenderung menghasilkan hidrogen sulfida, dapat hidup pada air yang dibekukan untuk masa yang lama (Jawetz *et al.*, 2001).

*Salmonella typhimurium* digolongkan dalam Enterobacteria Tribe III yang merupakan bakteri parasit pada hewan dan manusia. Bakteri ini bersifat patogen pada manusia dan dapat menyebabkan demam non-tifoid, gastro-enteritis, sepsitemia (keracunan darah) dan thypus abdominalis (Cullimore, 2000, Triatmodjo, 1994). Penyakit yang ditimbulkan *Sa. typhimurium* bervariasi dalam manusia yaitu tipikal paratyphoid dan peradangan usus. Bakteri ini dapat mempengaruhi sel-sel limphoid dalam usus dan limpa yang sering diinfeksi ketika bakteri ini masuk dalam aliran darah. Bakteri ini juga diisolasi dari kasus penyakit osteomyelitis, meningitis, apendiksitis, salpingitis, dan furunculosis. Sedangkan dalam hewan ternak dapat menyebabkan diare akut dan fatal infeksi usus.

Dinding sel gram negatif, termasuk pada bakteri *Salmonella* mengandung tiga polimer yang terletak di luar lapisan peptidoglikan, yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipolisakarida. Molekul-molekul lipoprotein yang istimewa menghubungkan selaput luar dengan lapisan peptidoglikan. Fungsinya untuk menstabilkan selaput luar dan diletakkan pada lapisan peptidoglikan (Pelczar dan Chan, 1988).

Selaput luar merupakan suatu selaput ganda fosfolipid yang khas dimana sebagian besar dari fosfolipid lapisan luar diganti dengan molekul-molekul lipopolisakarida (LPS). Selaput luar mencegah kebocoran dari protein periplasma dan melindungi sel dari garam-garam empedu dan enzim-enzim hidrolisa inangnya. Pori protein di selaput luar menyebabkan selaput tersebut permeabel bagi zat terlarut yang berat molekulnya rendah, namun molekul antibiotik besar mampu menembusnya secara relatif lambat. Hal ini menyebabkan bakteri gram negatif lebih resisten terhadap antibiotik (Pelczar dan Chan, 1988).

Lipopolisakarida dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari suatu lipid yang kompleks, dinamakan lipid A, merupakan tempat melekatnya polisakarida yang terdiri dari suatu rentetan inti dan ujung dari satuan-satuan berulang. Lipopolisakarida terikat pada selaput luar dengan ikatan-ikatan hidrofobik. Lipopolisakarida ini dibuat pada selaput sitoplasma dan diangkut ke tempat akhir di bagian luar. Lipopolisakarida digunakan untuk fungsi banyak protein selaput luar. Rongga antara selaput luar dan dalam dinamakan rongga periplasma, mengandung sejumlah protein penting dan oligosakarida. Protein-protein periplasma meliputi ikatan protein untuk substrat khusus dan enzim hidrolitik yang menghancurkan substrat tak dapat diangkut menjadi dapat diangkut. Lipopolisakarida disebut juga antigen-O yang berperan untuk patogenisasi (Pelczar dan Chan, 1988, Purwoko, 2007).

## **B. Kerangka Pemikiran**

*Staphylococcus aureus* dan *Sa. typhimurium* merupakan bakteri patogen yang dapat menimbulkan berbagai macam penyakit bagi hewan dan manusia.

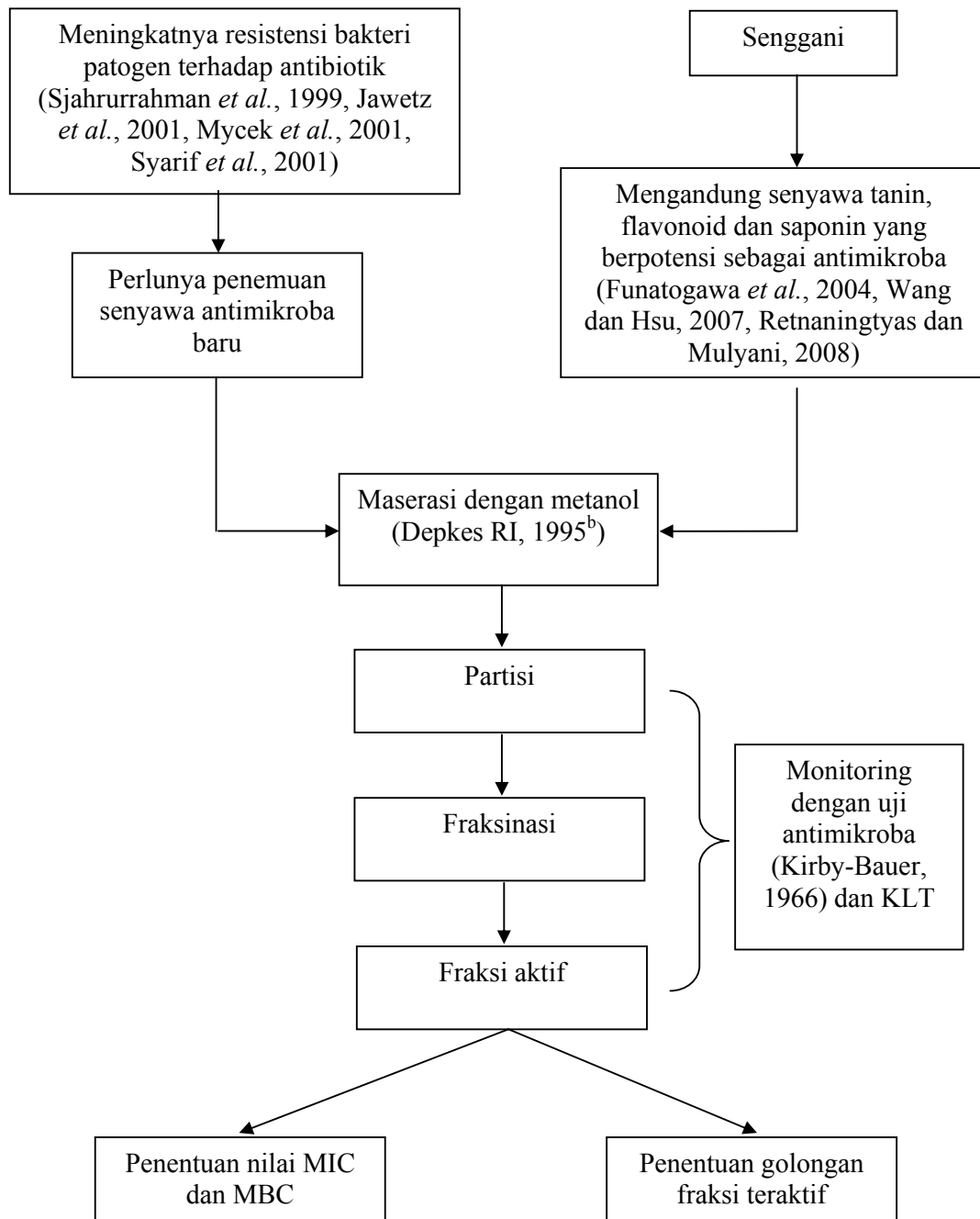
Pengendalian terhadap kedua bakteri ini perlu dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, serta membasmi bakteri patogen pada inang yang terinfeksi. Selama ini, pengendalian terhadap bakteri patogen dilakukan dengan cara fisik (misalnya pemanasan) dan cara kimia (dengan antibiotik). Akan tetapi, penggunaan antibiotik dengan dosis dan waktu terapi yang tidak tepat dapat menimbulkan masalah tersendiri, yaitu resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Oleh karena itu, diperlukan adanya penemuan senyawa-senyawa antimikroba baru yang dapat digunakan untuk mengendalikan bakteri patogen tersebut, diantaranya adalah hasil metabolisme sekunder dari Senggani.

Senggani secara empiris telah digunakan masyarakat untuk mengatasi berbagai penyakit. Diketahui pula bahwa Senggani mengandung senyawa-senyawa yang berpotensi untuk digunakan sebagai antimikroba, yaitu flavonoid, tanin dan saponin. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba daun Senggani terhadap bakteri patogen, perlu dilakukan pengujian terhadap makhluk hidup (*bioassay*), yaitu terhadap bakteri *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.

Sebelumnya dilakukan pemisahan komponen aktif dari daun Senggani. Pemisahan ini dilakukan dengan ekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan dengan partisi padat-cair. Selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan VLC dengan sistem fase gerak bertingkat menurut kepolarannya yaitu dari pelarut yang kurang polar ke pelarut yang lebih polar. Fraksinasi ini bertujuan untuk mendapatkan fraksi aktif dari Senggani. Setiap tahap pemisahan selalu dimonitoring dengan KLT serta uji antimikroba

terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*. Uji daya hambat terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* dilakukan dengan metode difusi (sumuran).

Penentuan nilai MIC dan MBC dari fraksi teraktif dilakukan dengan metode dilusi, yaitu dengan melakukan suatu seri pengenceran bahan yang akan diuji di dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan bakteri yang akan diperiksa dengan dosis tertentu. Selanjutnya ditentukan nilai batas terkecil yang masih dapat menghambat tumbuhnya bakteri (MIC) dan nilai batas terkecil yang dapat membunuh bakteri (MBC). Alur kerangka pemikiran seperti tampak pada Gambar 2 berikut ini,



Gambar 2. Alur kerangka pemikiran

### **C. Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan adalah:

1. Hasil partisi dan fraksinasi daun Senggani mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.
2. Nilai MIC dan MBC fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* dapat diketahui.
3. Profil kromatografi lapis tipis menunjukkan adanya fraksi teraktif dari daun senggani yang berpotensi sebagai antimikroba pada Rf tertentu.



### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat MIPA dan Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta selama Bulan Juni-November 2009.

##### **B. Alat Penelitian**

###### **1. Alat untuk Ekstraksi Partisi dan Fraksinasi**

Lampu UV<sub>254</sub> dan UV<sub>366</sub>, *chamber*, *rotary evaporator* (Heidolph vv 2000, Germany), oven (Memert, Germany), gelas beker dan alat-alat gelas lainnya.

###### **2. Alat untuk Uji Antimikroba**

Tabung reaksi, pinset, cawan petri, pipet volume, mikropipet, gelas beker, jarum ose, bunsen, perforator (pencetak lubang), LAF, sarung tangan dan masker.

##### **C. Bahan Penelitian**

###### **1. Bahan Utama**

Bahan utama untuk penelitian ini adalah serbuk kering daun Senggani yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawangmangu.

###### **2. Bahan untuk Ekstraksi Partisi dan Fraksinasi**

Metanol (untuk maserasi), eter (untuk partisi padat-cair), Silika gel GF<sub>254</sub> (E. Merck) berukuran lebih dari 60 µm sebagai fase diam, dan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform, etil asetat dan metanol (untuk VLC).

### **3. Bahan untuk Kromatografi Lapis Tipis dan Penentuan Golongan Senyawa**

Plat silika gel 60 GF<sub>254</sub>, kloroform, n-heksan, etil asetat, wasbensin, pereaksi semprot serium (IV) sulfat, AlCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, SbCl<sub>3</sub>, Lieberman-Burchad dan vanilin asam sulfat.

### **4. Bahan untuk Uji Antimikroba serta Uji MIC dan MBC**

Biakan murni *S. aureus* strain ATCC 6538 dan *Sa. typhimurium* strain ATCC 13311, media NA, NB, MHA, MHB, amoksisilin (2,5 mg/mL), CMC (1 mg/mL) dan akuades.

## **D. Cara Kerja**

### **1. Penyiapan Sampel**

Sampel yang digunakan adalah serbuk kering daun Senggani. Simplisia daun Senggani diperoleh dan dideterminasi di B2P2TO2T Tawangmangu pada tahun 2009.

### **2. Penyiapan bakteri Uji**

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *S. aureus* strain ATCC 6538 dan *Sa. typhimurium* strain ATCC 13311. Biakan murni *S. aureus* strain ATCC 6538 dan *Sa. typhimurium* strain ATCC 13311 terlebih dahulu diregenerasikan pada media NA untuk memperbanyak jumlah (stok) bakteri yang akan digunakan untuk uji.

Regenerasi bakteri dilakukan dengan menumbuhkan 1-2 ose bakteri ke dalam 10 mL media cair NB kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dengan pengocokan di atas *shaker* pada kecepatan 150 rpm. Pengocokan

dilakukan agar bakteri dapat tumbuh optimal dalam media NB. Setelah 24 jam, bakteri dari media NB diinokulasi dengan metode agar miring pada media NA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C agar bakteri dapat tumbuh dengan optimal. Setelah diinkubasi selama 24 jam, kultur bakteri kemudian disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4°C agar pertumbuhan bakteri tidak terjadi dan bakteri tidak segera mati.

### **3. Pemisahan Komponen Bioaktif**

Pada penelitian ini untuk memisahkan komponen bioaktif digunakan ekstraksi, partisi, dan fraksinasi. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Tahap selanjutnya dilakukan partisi menggunakan pelarut eter dengan sentrifugasi. Selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan VLC dengan sistem fase gerak bertingkat dengan kepolaran yang berbeda.

#### **a. Ekstraksi**

Serbuk kering daun Senggani dimaserasi menggunakan metanol selama 24 jam. Setelah 24 jam, rendaman disaring dengan corong gelas, ampasnya dipisahkan dan filtrat I yang diperoleh diuapkan dengan bantuan *rotary evaporator* sehingga didapat ekstrak metanol yang kemudian dikeringanginkan dan disimpan di eksikator.

Ampas kemudian dimaserasi kembali seperti cara di atas sebanyak tiga kali sehingga diperoleh filtrat II dan III lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Tahap selanjutnya seperti pada filtrat I sehingga diperoleh ekstrak metanol.

## **b. Partisi**

Proses partisi yang dilakukan merupakan partisi padat-cair dengan menggunakan pelarut eter. Ekstrak metanol yang didapatkan dari proses maserasi dipartisi dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh bagian yang larut dan tidak larut pada eter. Bagian yang larut dan tidak larut masing-masing diuapkan sehingga diperoleh bagian kering. Selanjutnya kedua bagian masing-masing dipantau profil kandungan senyawa kimianya menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform:etil asetat (1:9 v/v). Profil KLT yang menunjukkan hasil pemisahan kandungan kimia yang tidak tumpang tindih antara bagian yang larut dan bagian tidak larut dipilih untuk proses *scaling up* pada tahap partisi. Bagian ini kemudian diuji aktivitas antimikrobanya terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*. Bagian yang menunjukkan luas zona hambat terbesar merupakan bagian aktif yang selanjutnya dipilih untuk difraksinasi agar didapatkan komponen senyawa yang lebih sederhana.

## **c. Fraksinasi**

Fraksinasi dilakukan terhadap hasil partisi teraktif menggunakan VLC dengan sistem fase gerak bertingkat menurut kepolarannya yaitu dari pelarut yang kurang polar ke pelarut yang lebih polar, sehingga dihasilkan beberapa fraksi.

Masing-masing fraksi yang dihasilkan kemudian diuji antibakteri terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*. Fraksi teraktif kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis untuk penentuan golongan senyawa fraksi teraktifnya serta ditentukan nilai MIC dan MBC-nya.

Perbandingan pelarut yang digunakan pada VLC yaitu:

- |  |   |
|--|---|
| 1. CHCl <sub>3</sub> 100%              | 7. CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:15 v/v) |
| 2. CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (2:1 v/v) | 8. CHCl <sub>3</sub> : MeOH (1:1 v/v)   |
| 3. CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:1 v/v) | 9. CHCl <sub>3</sub> : MeOH (2:1 v/v)   |
| 4. CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:3 v/v) | 10. CHCl <sub>3</sub> : MeOH (2:1 v/v)  |
| 5. CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:5 v/v) | 11. CHCl <sub>3</sub> : MeOH (6:1 v/v)  |
| 6. CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:9 v/v) | 12. MeOH 100%                           |

#### **4. Uji Antimikroba terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* dan *Sa. typhimurium***

Pengujian daya hambat terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* dilakukan dengan metode difusi sumuran (*well diffusion method*) dari Kirby-Bauer (1966). Biakan murni *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* masing-masing diregenerasi dalam media NA dengan metode agar miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Uji antibakteri dilakukan dalam kondisi yang steril agar tidak terjadi kontaminasi. Sterilisasi dilakukan terhadap alat, bahan dan ruangan yang akan digunakan. Sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C. Sterilisasi media membutuhkan waktu 15-20 menit sedangkan sterilisasi alat membutuhkan waktu 30 menit. Uji antimikroba dilakukan dalam LAF pada keadaan steril sehingga diperlukan adanya penyinaran sinar UV selama 2 jam dan disemprot dengan alkohol 70% sebagai disinfektan.

Sebanyak 1-2 ose bakteri uji dikulturkan dalam 10 mL media MHB, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dengan dilakukan

pengocokan menggunakan *shaker* pada kecepatan 150 rpm. Konsentrasi kultur sel diencerkan dalam 100 mL media MHA steril hingga mencapai  $1 \times 10^6$  CFU/mL. Media MHA sebanyak 10 mL dituangkan dalam cawan petri kemudian didiamkan hingga memadat. Setelah memadat, media MHA dalam cawan petri yang telah diinokulasi *S. aureus* atau *Sa. typhimurium* tersebut kemudian dibuat lubang/sumuran dengan menggunakan perforator dengan diameter 7 mm. Dalam satu cawan petri dapat dibuat dua atau tiga sumuran sesuai dengan keperluan atau jumlah pengulangan yang dilakukan.

Sampel uji sebanyak 25  $\mu$ L dimasukkan dalam tiap sumuran pada media MHA dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 mg/mL. Masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak dua pengulangan (duplo). Cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati dan diukur besarnya diameter zona hambat yang terbentuk berupa zona bening di sekeliling sumuran.

Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan 3 kali pada sisi yang berbeda atau pada ketiga titik daerahnya. Dari kedua pengulangan untuk konsentrasi yang sama kemudian dibuat hasil rata-rata. Sebagai kontrol digunakan metanol, eter, akuades, CMC (1 mg/mL) dan amoksisilin (2,5 mg/mL).

## **5. Kromatografi Lapis Tipis dan Penentuan Golongan Fraksi Teraktif**

Setiap proses pemisahan pada tahap ekstraksi, partisi dan fraksinasi dipantau profil kandungan senyawa kimianya dengan KLT. Hasil ekstraksi, partisi maupun fraksinasi dilarutkan pada pelarut kemudian ditotolkan pada lempeng

silika gel 60 GF<sub>254</sub> menggunakan pipa kapiler. Pengembangan dilakukan dalam bejana pengembang dengan jarak pengembangan 8 cm dan menggunakan fase gerak yang sesuai.

Spot-spot yang terbentuk pada plat KLT diamati di bawah sinar UV<sub>254</sub> dan UV<sub>366</sub>. Selanjutnya plat KLT disemprot dengan serum (IV) sulfat untuk mendeteksi keberadaan senyawa organik secara umum dan berbagai pereaksi semprot spesifik untuk menentukan golongan senyawa aktif. Pereaksi semprot spesifik yang digunakan adalah sebagai berikut:

- a. FeCl<sub>3</sub> 1% : sebanyak 0,1 gram FeCl<sub>3</sub> dilarutkan dalam 10 mL akuades.

Pereaksi semprot ini digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa tanin dan fenolat. Sampel dinyatakan positif mengandung tanin dan fenolat jika terbentuk warna hijau, merah atau biru setelah penyemprotan (Harborne, 2006).

- b. AlCl<sub>3</sub> 1% : sebanyak 0,1 gram AlCl<sub>3</sub> dilarutkan dalam 10 mL etanol 95%.

Pereaksi semprot ini digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid. Sampel dinyatakan positif mengandung flavonoid jika terbentuk fluoresensi hijau kuning dengan sinar UV<sub>366</sub> setelah penyemprotan (Harborne, 2006).

- c. Vanillin asam sulfat : terdiri atas 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam etanol dan 1% vanilin dalam etanol. Deteksi dilakukan dengan menyemprot plat silika dengan larutan 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam etanol kemudian disemprot kembali dengan larutan 1% vanilin dalam etanol. Pereaksi semprot ini digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid. Sampel dikatakan positif mengandung senyawa

terpenoid jika terbentuk warna ungu, biru, biru-ungu, atau orange ke merah ungu setelah dilakukan penyemprotan (Harborne, 2006).

- d.  $\text{SbCl}_3$  20% dalam kloroform: sebanyak 2 gram serbuk  $\text{SbCl}_3$  dilarutkan dalam 10 mL kloroform. Pereaksi semprot ini digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa saponin. Sampel dikatakan positif mengandung saponin jika terbentuk warna merah violet setelah disemprot dengan  $\text{SbCl}_3$  (Santosa dan Hertiani, 2005).
- e. Lieberman-Burchard: sebanyak 5 mL anhidrida asam asetat dicampurkan dengan 5mL asam sulfat pekat. Campuran ini kemudian ditambahkan dalam 50mL etanol absolut. Setiap pencampuran zat dilakukan dengan pendinginan. Pereaksi semprot ini digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa steroid dan terpenoid. Sampel dikatakan positif mengandung steroid jika terbentuk warna biru dan dinyatakan positif mengandung terpenoid jika terbentuk warna merah (Permana, 2009).

Setelah disemprot dengan pereaksi semprot spesifik, plat KLT dipanaskan dalam oven selama 10 menit dengan suhu  $100^\circ\text{C}$ . Penentuan golongan senyawa aktif dilakukan terhadap fraksi teraktif dari uji daya hambat terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.

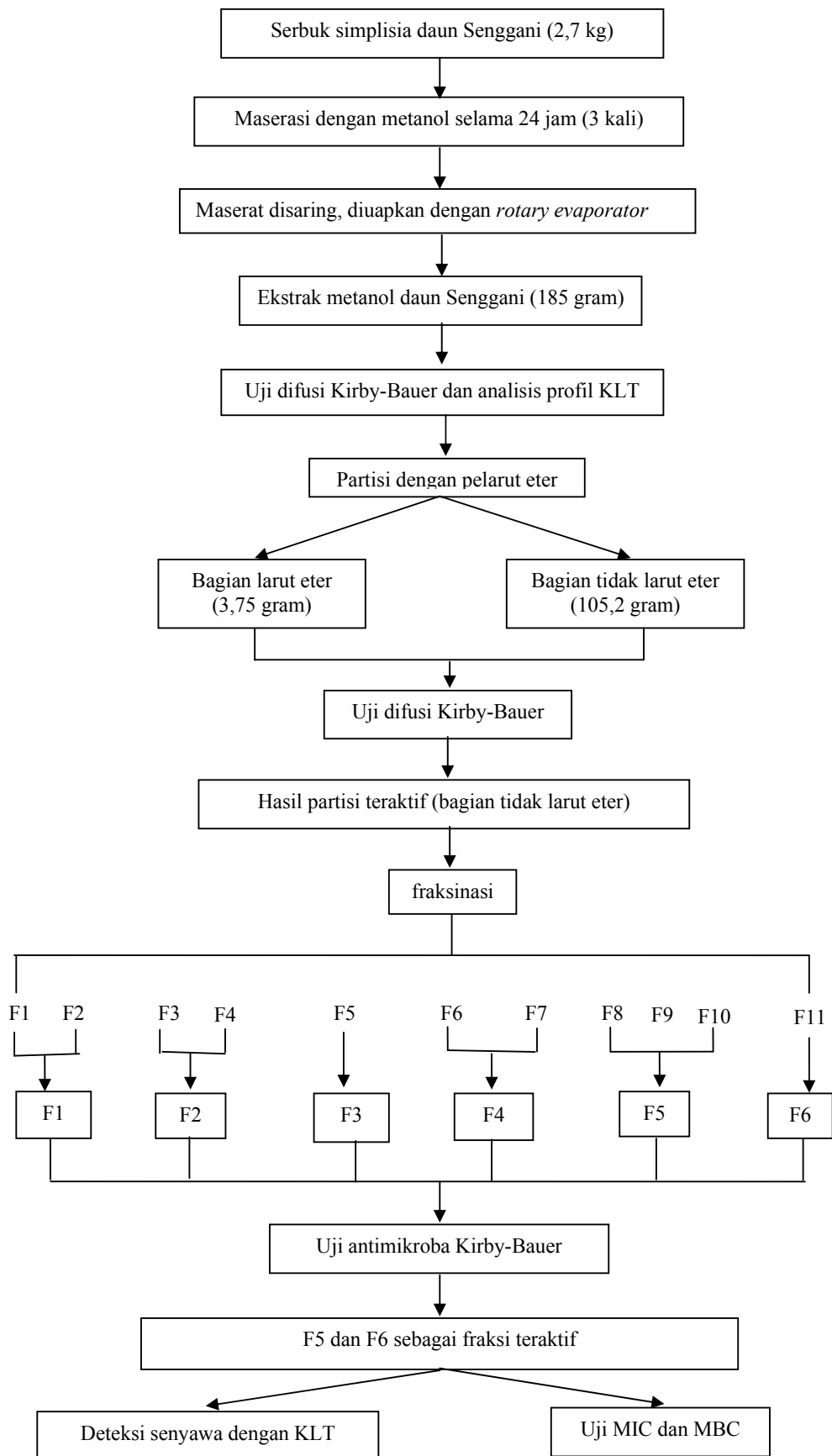
## **6. Uji MIC dan MBC**

Penentuan nilai MIC dan MBC dilakukan dengan metode dilusi. Inokulum dari *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* diperoleh dari koloni segar yang tumbuh pada media NA. Masing-masing spesies bakteri diinokulasi pada 10 mL MHB dalam erlenmeyer (ukuran 50 mL), kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan *shaker*



pada kecepatan 150 rpm. Setelah 24 jam, sebanyak 200  $\mu$ L inokulum dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 mL media MHB.

Fraksi teraktif daun Senggani dipersiapkan dalam bentuk pengenceran berseri dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 mg/mL. Masing-masing pengenceran ditambahkan sebanyak 100  $\mu$ L ke dalam tabung reaksi yang telah berisi inokulum bakteri. Selanjutnya tabung reaksi diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri dalam tabung yang tidak menunjukkan pertumbuhan kemudian disubkultur dalam media tanpa senyawa uji untuk menentukan apakah hambatan ini permanen atau tidak. Apabila pada uji lanjut terdapat pertumbuhan bakteri, maka konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MIC. Sebaliknya, apabila pada uji lanjut tidak terdapat pertumbuhan bakteri, maka konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MBC. Mekanisme kerja penelitian seperti terlihat pada Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Diagram kerja penelitian

### **E. Analisis Data**

Analisis deskriptif dilakukan terhadap profil KLT pada komponen senyawa ekstrak metanol, hasil partisi serta hasil fraksinasi sebelum digunakan untuk uji antimikroba. Hasil pengukuran dari zona hambat pada uji antimikroba dibandingkan antara satu dengan yang lainnya. Komponen senyawa teraktif pada uji antimikroba adalah yang memiliki diameter zona hambat terbesar.

Penentuan nilai MIC dan MBC dilakukan pada hasil fraksi yang memiliki aktivitas antimikroba terbesar. Nilai MIC dan MBC ditentukan setelah dilakukan uji lanjut. Apabila pada uji lanjut terdapat pertumbuhan bakteri, maka konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MIC. Sebaliknya, apabila pada uji lanjut tidak terdapat pertumbuhan bakteri, maka konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai MBC.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Penyiapan Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk simplisia daun Senggani. Simplisia menurut Depkes RI, (1995<sup>a</sup>) didefinisikan sebagai bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, serta kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Proses pengeringan daun Senggani dilakukan di B2P2TO2T menggunakan alat pengering dengan suhu 40°C selama 30 jam. Pengeringan dilakukan agar reaksi enzimatik tidak berjalan dan mencegah pertumbuhan mikroba pada simplisia daun Senggani. Daun yang telah kering kemudian dibuat serbuk untuk memperluas daerah penarikan kandungan kimia, sehingga pada proses ekstraksi, kontak antara pelarut dengan sampel lebih efektif dan senyawa dapat terekstrak dengan optimal.

Menurut Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat (Depkes RI, 2000) dan Sembiring dkk. (2006), proses pembuatan serbuk simplisia dapat mempengaruhi kualitas ekstrak sehingga harus dilakukan dengan hati-hati. Apabila serbuk terlalu kasar, maka daerah penyerapan kandungan kimia oleh pelarut akan semakin sempit sehingga proses ekstraksi kurang optimal. Namun sebaliknya, apabila serbuk terlalu halus, maka akan semakin rumit secara teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi karena senyawa yang tidak diinginkan maupun debris sel pada simplisia akan terikut pada ekstrak sehingga mempengaruhi kualitas ekstrak. Selain itu, selama penggunaan peralatan

penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras, misalnya logam, maka akan timbul panas yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Selain dipengaruhi oleh proses penyerbukan dan interaksi dengan logam, kualitas ekstrak juga dipengaruhi oleh stabilitas senyawa dalam ekstrak itu sendiri, oksidasi, cahaya, derajat keasaman (Depkes RI, 2000), pemanasan dan jenis pelarut (Srijanto dkk., 2004, Tensiska dkk., 2007). Setelah didapatkan serbuk simplisia daun Senggani, kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi.

### **B. Ekstraksi dan Uji Antimikroba Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995<sup>b</sup>). Pelarut metanol digunakan untuk proses ekstraksi pada penelitian ini. Menurut Noor dkk. (2006), metanol banyak digunakan untuk ekstraksi tanaman obat dan dapat menarik zat aktif yang terkandung di dalamnya sebanyak-banyaknya. Hasil ekstraksi berupa ekstrak kental berwarna hijau kecoklatan. Menurut Retnaningtyas dan Mulyani (2008), ekstrak metanol daun Senggani memiliki aktivitas penghambatan yang kuat terhadap *S. aureus*, *Sa. typhi*, *B. subtilis*, *Sh. dysenteriae* dan *E. coli*.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi simplisia cara dingin (tanpa pemanasan) yang dilakukan dengan menggunakan pelarut, disertai dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruang (Depkes RI, 2000). Maserasi

dilakukan dengan merendam serbuk simplisia daun Senggani dalam pelarut hingga seluruh serbuk simplisia terendam seluruhnya. Larutnya kandungan kimia simplisia saat proses maserasi, umumnya akan terjadi apabila pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel. Di dalam rongga sel inilah terdapat senyawa aktif yang dapat larut di dalam pelarut. Perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif di dalam sel dengan diluar sel menyebabkan larutan dengan konsentrasi tinggi didesak keluar ke konsentrasi rendah. Apabila telah terjadi keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel, maka proses ekstraksi akan berhenti. Oleh karena itu, pada proses maserasi disertai pula dengan pengadukan agar terjadi perputaran pelarut sehingga akan merubah profil konsentrasinya dan proses ekstraksi akan terjadi secara optimal.

Struktur kimia berbagai senyawa berbeda yang terkandung dalam daun Senggani akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap berbagai faktor seperti pemanasan, udara, cahaya, serta logam berat (Depkes RI, 2000, Srijanto dkk., 2004, Tensiska dkk., 2007). Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan, sehingga pengaruh negatif akibat pemanasan terhadap senyawa termolabil yang mungkin terdapat dalam daun Senggani dapat dihindari. Proses maserasi dilakukan menggunakan wadah terbuat dari kaca untuk menghindari terjadinya reaksi kimia antara pelarut maupun senyawa kimia yang tersari dengan wadahnya, karena sifat kaca yang lebih stabil (tidak mudah bereaksi) daripada plastik maupun logam. Selama proses maserasi, wadah selalu dalam keadaan tertutup untuk menghindari kemungkinan terjadinya proses oksidasi oleh udara luar. Maserasi juga dilakukan di dalam ruangan tertutup untuk

menghindari pengaruh cahaya (sinar matahari) terhadap stabilitas senyawa-senyawa yang akan diambil.

Hasil maserasi (maserat) kemudian disaring dan dilakukan pemekatan. Pemekatan berarti peningkatan jumlah *partial solute* (senyawa terlarut) hingga terbentuk ekstrak yang pekat atau kental, sehingga tidak terdapat lagi pelarut dalam ekstrak. Pemekatan dilakukan dengan bantuan *rotary evaporator*. *Rotary evaporator* digunakan agar proses pemekatan menjadi lebih cepat serta pelarut yang digunakan dapat diperoleh kembali sehingga lebih efisien. Ekstrak yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam eksikator untuk menghindari kerusakan senyawa kimia dalam ekstrak.

Ekstrak kemudian diuji aktivitas penghambatannya terhadap *S. aureus* strain ATCC 6538 dan *Sa. typhimurium* strain ATCC 13311. Uji antimikroba ekstrak metanol daun Senggani terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*) dari Kirby-Bauer (1966) menggunakan media MHA. Ekstrak metanol daun Senggani diujikan pada *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 mg/mL. Sebagai kontrol digunakan CMC (1 mg/mL), metanol dan antibiotik amoksisilin (2,5 mg/mL). Amoksisilin digunakan karena merupakan antibiotik yang berspektrum luas, meliputi bakteri gram positif dan negatif, aerobik dan anaerobik, serta dapat larut dalam air (Mutschler, 1991; Syarif dkk., 2001; Tjay dan Rahardja, 2002) sehingga lebih memudahkan dalam penggunaannya.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak daun Senggani yang diujikan memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus* maupun *Sa. typhimurium*. Aktivitas penghambatan ini ditunjukkan dengan adanya zona bening (zona hambat) di sekitar sumuran. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* seperti disajikan pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak metanol daun Senggani terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

Sampel yang diuji Konsentrasi (mg/mL)		Diameter zona hambat (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>Sa. typhimurium</i>
Ekstrak metanol daun Senggani	100	7,985	5,600
	200	10,600	8,730
	300	10,735	9,635
	400	11,435	12,700
	500	12,350	12,665
	600	13,065	13,930
	700	12,715	10,685
	800	12,835	13,085
	900	13,835	14,615
	1000	13,320	13,500
Kontrol methanol		0,000	0,000
Kontrol CMC (1 mg/mL)		0,000	0,000
Kontrol amoksisilin (2,5 mg/mL)		5,400	12,030

Keterangan:

 : diameter zona hambat terbesar

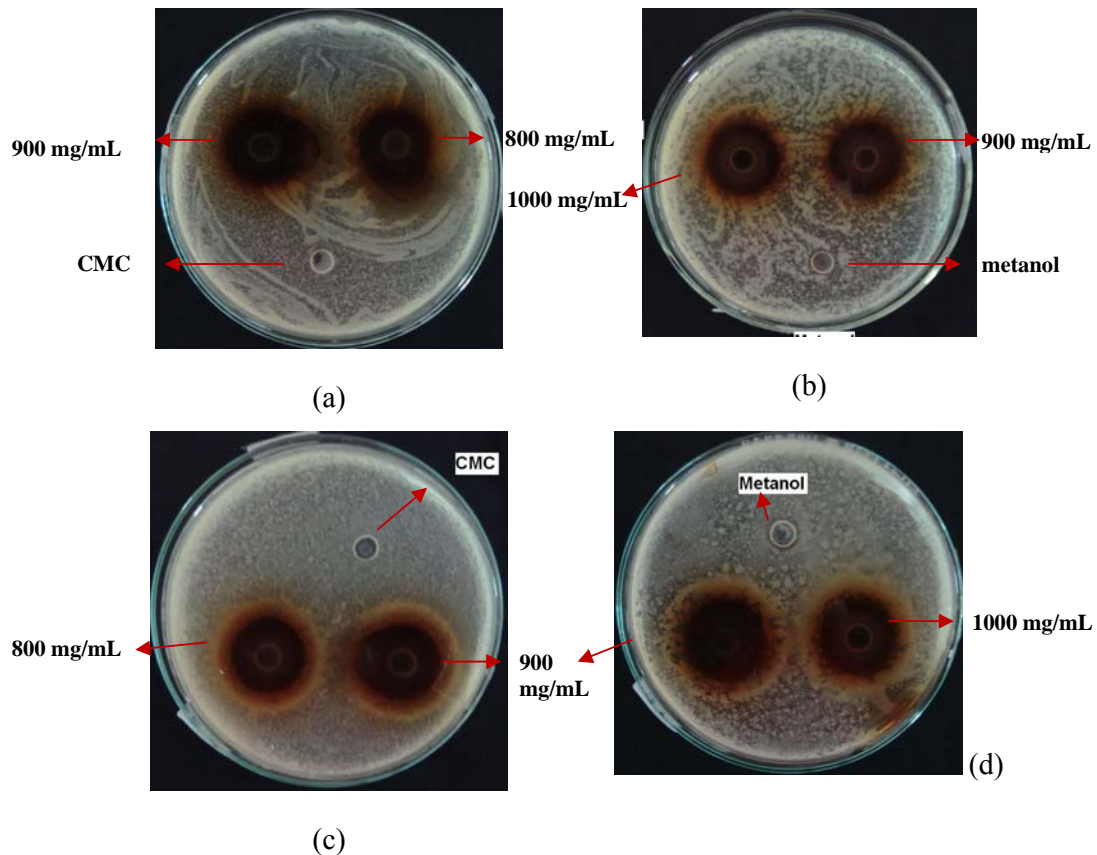
Davis dan Stout (1971) menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Hasil pengukuran zona hambat (Tabel 1) menunjukkan



bahwa ekstrak metanol daun Senggani memiliki aktivitas penghambatan yang sedang terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 100 mg/mL, sedangkan konsentrasi 200-1000 mg/mL menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang kuat, dimana zona hambat terbesar pada konsentrasi 900 mg/mL dengan diameter zona hambat 13,835 mm. Aktivitas penghambatan ekstrak metanol terhadap pertumbuhan *Sa. typhimurium* pada konsentrasi 100-300 mg/mL tergolong sedang dan pada konsentrasi 400-1000 mg/mL tergolong kuat dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 900 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 14,615 mm.

Tabel 1 menunjukkan bahwa kontrol metanol dan CMC (1 mg/mL) tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan baik terhadap *S. aureus* maupun *Sa. typhimurium*. Sebaliknya, amoksisilin (2,5 mg/mL) menunjukkan aktivitas penghambatan yang tergolong sedang terhadap *S. aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 5,400 mm dan tergolong kuat terhadap *Sa. typhimurium* dengan diameter zona hambat sebesar 12,030 mm. Hal ini mengindikasikan bahwa walaupun memiliki aktivitas penghambatan yang tergolong kuat, namun jika dibandingkan dengan amoksisilin, maka aktivitas penghambatan ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* masih tergolong kecil.

Gambar 4 menunjukkan diameter zona hambat terbesar ekstrak metanol terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.



Gambar 4. Hasil uji antimikroba (a) ekstrak metanol konsentrasi 800 dan 900 mg/mL terhadap *S. aureus*, (b) ekstrak metanol konsentrasi 900 dan 1000 mg/mL terhadap *S. aureus*, (c) ekstrak metanol konsentrasi 800 dan 900 mg/mL terhadap *Sa. typhimurium* dan (d) ekstrak metanol konsentrasi 900 dan 1000 mg/mL terhadap *Sa. typhimurium*.

Sensitivitas *S.aureus* terhadap ekstrak metanol daun Senggani tergolong kuat mulai dari konsentrasi 200 mg/mL, sedangkan pada *Sa. typhimurium* diperlukan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, yaitu 400 mg/mL. Hal ini juga dilaporkan oleh Rahayu (2000), Yuharmen (2002), Kusmiyati dan Agustini (2007), serta Handayani dkk. (2008) yang menyatakan bahwa bakteri gram positif

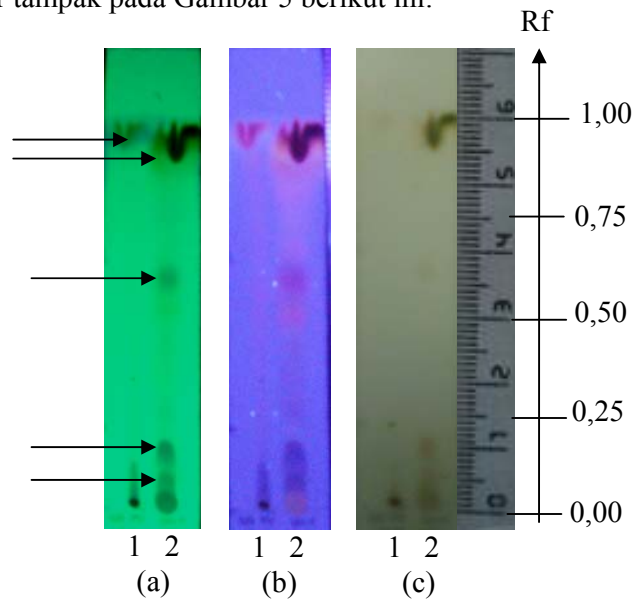
pada umumnya memiliki sensitivitas yang lebih tinggi terhadap senyawa antimikroba dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Perbedaan sensitivitas bakteri gram positif dan gram negatif terhadap antimikroba ini dapat dipengaruhi karena adanya perbedaan struktur dinding sel pada kedua golongan bakteri tersebut.

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, dimana dinding selnya tersusun atas peptidoglikan yang sangat tebal (Williams *et al.*, 1996, Jawetz *et al.*, 2001). Proses perakitan dinding sel diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida dan menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Penghambatan pada perakitan dinding sel mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung silang ke dalam peptidoglikan dinding sel menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kematian bakteri (Morin dan Gorman, 1995). Kerusakan pada dinding sel atau hambatan pada pembentukannya dapat berakibat lisis pada sel (Jawetz *et al.*, 2001). Lisisnya sel bakteri tersebut dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri (Ajizah *et al.*, 2007).

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Senggani memiliki aktivitas penghambatan yang tergolong sedang hingga kuat terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*. Oleh karena itu, daun Senggani diteliti lebih lanjut dengan memisahkan ekstrak metanol menjadi dua bagian dengan cara partisi. Pemisahan ini bertujuan untuk memperoleh senyawa antimikroba daun Senggani yang lebih sederhana.

### C. Partisi dan Uji Antimikroba Hasil Partisi

Proses partisi yang dilakukan merupakan partisi padat-cair, yaitu pemisahan senyawa berdasarkan kemampuan kelarutannya dalam suatu pelarut, sehingga dihasilkan bagian yang larut dan tidak larut pada pelarut yang digunakan. Partisi dilakukan dengan menggunakan alat sentrifugasi, dengan pelarut berupa eter. Eter memiliki indeks kepolaran 2,8 di bawah indeks kepolaran metanol yaitu 5,1 sehingga dengan perbedaan tingkat kepolaran diantara keduanya diharapkan partisi dengan eter ini dapat memisahkan senyawa yang bersifat semipolar agar masuk dalam bagian larut eter sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat lebih polar masuk dalam bagian tidak larut eter. Kromatogram dari proses partisi eter tampak pada Gambar 5 berikut ini.



Gambar 5. Kromatogram bagian larut dan tidak larut eter dengan deteksi

(a) UV<sub>254</sub> (b) UV<sub>366</sub> (c) serium (IV) sulfat

Fase diam : silika gel GF<sub>254</sub>

Fase gerak: kloroform:etil asetat 1:9 (v/v)

Jarak pengembangan: 6 cm

Keterangan 1.Larut eter dan 2. Tidak larut eter

Kromatogram menunjukkan bahwa partisi dengan eter dapat memisahkan ekstrak metanol menjadi dua bagian yang tidak saling tumpang tindih, dimana bagian larut eter kurang dapat terelusi dibandingkan bagian tidak larut eter dengan fase gerak kloroform : etil asetat (1:9 v/v). Deteksi dengan UV<sub>254</sub> menunjukkan bahwa adanya peredaman dengan latar belakang fluoresensi hijau yang mengindikasikan adanya senyawa ikatan rangkap. Kromatogram juga menunjukkan bahwa bagian yang larut eter memiliki satu bercak dengan nilai Rf 0,97 sedangkan pada bagian yang tidak larut eter memiliki sekitar empat bercak dengan nilai Rf 0,10; 0,17; 0,65 dan 0,92. Hasil dari proses partisi didapatkan sebanyak 3,75 gram bagian yang larut eter dan 105,2 gram bagian yang tidak larut eter. Kedua bagian tersebut kemudian diuji aktivitasnya penghambatannya terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.

Uji antimikroba hasil partisi terhadap pertumbuhan bakteri menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*) Kirby-Bauer (1966). Bagian larut dan tidak larut eter masing-masing diujikan pada *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 mg/mL. Sebagai kontrol digunakan eter, metanol, CMC (1 mg/mL) dan amoksisilin (2,5 mg/mL). Hasil pengujian menunjukkan bahwa bagian larut dan tidak larut eter memiliki aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus* maupun *Sa. typhimurium*.

Hasil pengukuran diameter zona hambat (Tabel 2) menunjukkan bahwa bagian larut eter maupun tidak larut eter memiliki aktivitas penghambatan yang tergolong sedang hingga kuat terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*. Aktivitas penghambatan terbesar ditunjukkan bagian tidak larut eter

konsentrasi 900 mg/mL terhadap *S. aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 17,15mm. Sedangkan pada *Sa. typhimurium*, diameter zona hambat terbesar ditunjukkan pada bagian larut eter konsentrasi 700 mg/mL, yaitu sebesar 14, 53 mm. Pengukuran zona hambat hasil partisi larut eter dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* seperti ditunjukkan pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat hasil partisi dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

Sampel yang diuji		Diameter zona hambat (mm)			
		<i>S.aureus</i>		<i>Sa. typhimurium</i>	
		L	TL	L	TL
Hasil partisi (mg/mL)	100	5,65	9,70	10,27	6,85
	200	8,00	11,58	10,88	10,42
	300	9,42	15,35	14,17	11,68
	400	10,67	14,75	13,95	12,45
	500	11,18	14,1 7	11,55	12,40
	600	11,49	15,22	11,44	13,03
	700	13,02	16,07	14,53	12,94
	800	12,72	16,48	13,35	14,04
	900	13,10	17,15	14,30	13,32
	1000	12,27	16,59	12,62	13,32
Kontrol eter		0,00		0,00	
Kontrol metanol		0,00		0,00	
Kontrol CMC (1 mg/mL)		0,00		0,00	
Kontrol amoksisilin (2,5 mg/mL)		8,43		25,60	

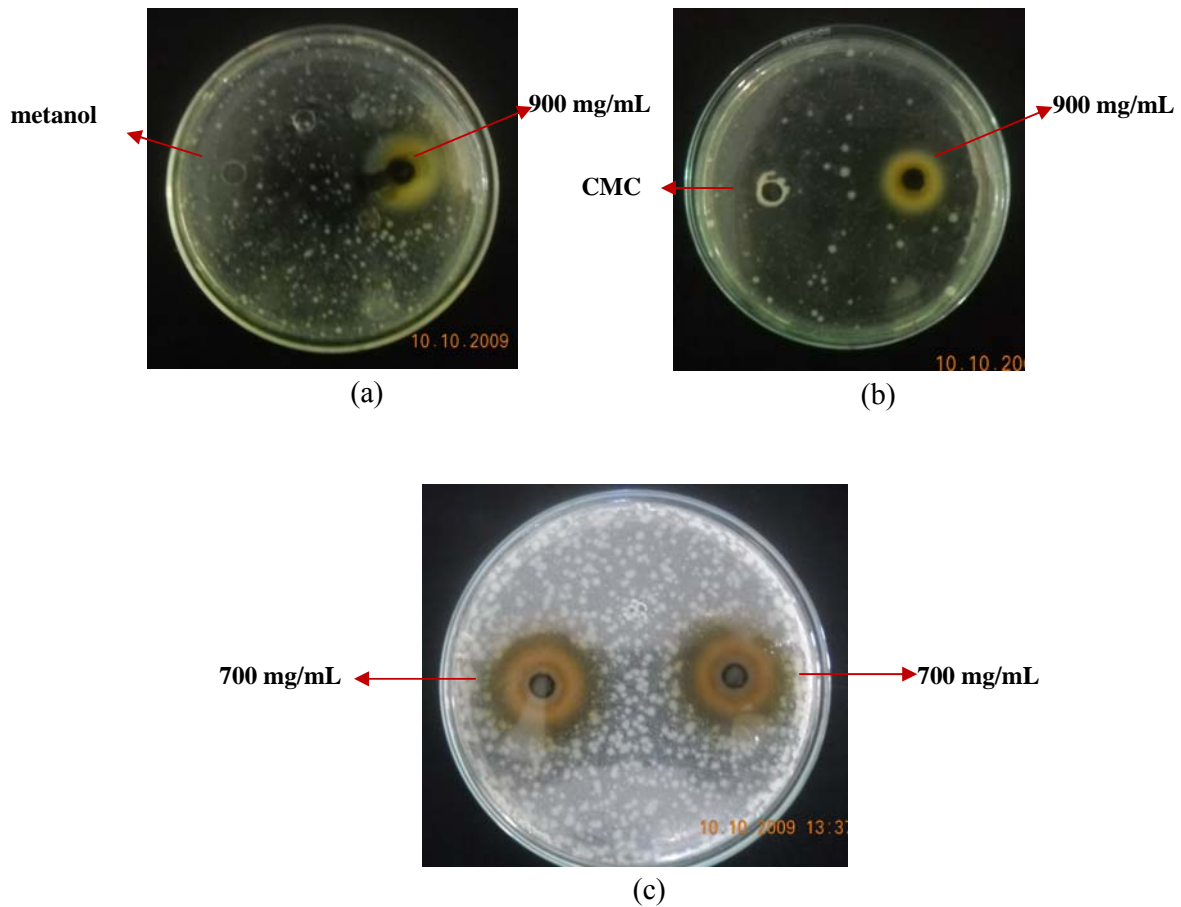
Keterangan:

L : bagian larut eter

TL : bagian tidak larut eter

: diameter zona hambat terbesar

Gambar 6 menunjukkan diameter zona hambat terbesar dari *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.



Gambar 6. Hasil uji antimikroba (a) bagian tidak larut eter konsentrasi 900 mg/mL dan kontrol metanol terhadap *S. aureus* (b) bagian tidak larut eter konsentrasi 900 mg/mL dan kontrol CMC (1 mg/mL) terhadap *S. aureus*, dan (c) bagian larut eter 700 mg/mL terhadap *Sa. typhimurium*.

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang sama, bagian tidak larut eter memiliki aktivitas penghambatan yang lebih kuat terhadap *S. aureus* dibandingkan dengan bagian larut eter. Sebaliknya, bagian larut eter memiliki aktivitas penghambatan yang lebih kuat terhadap *Sa. typhimurium*

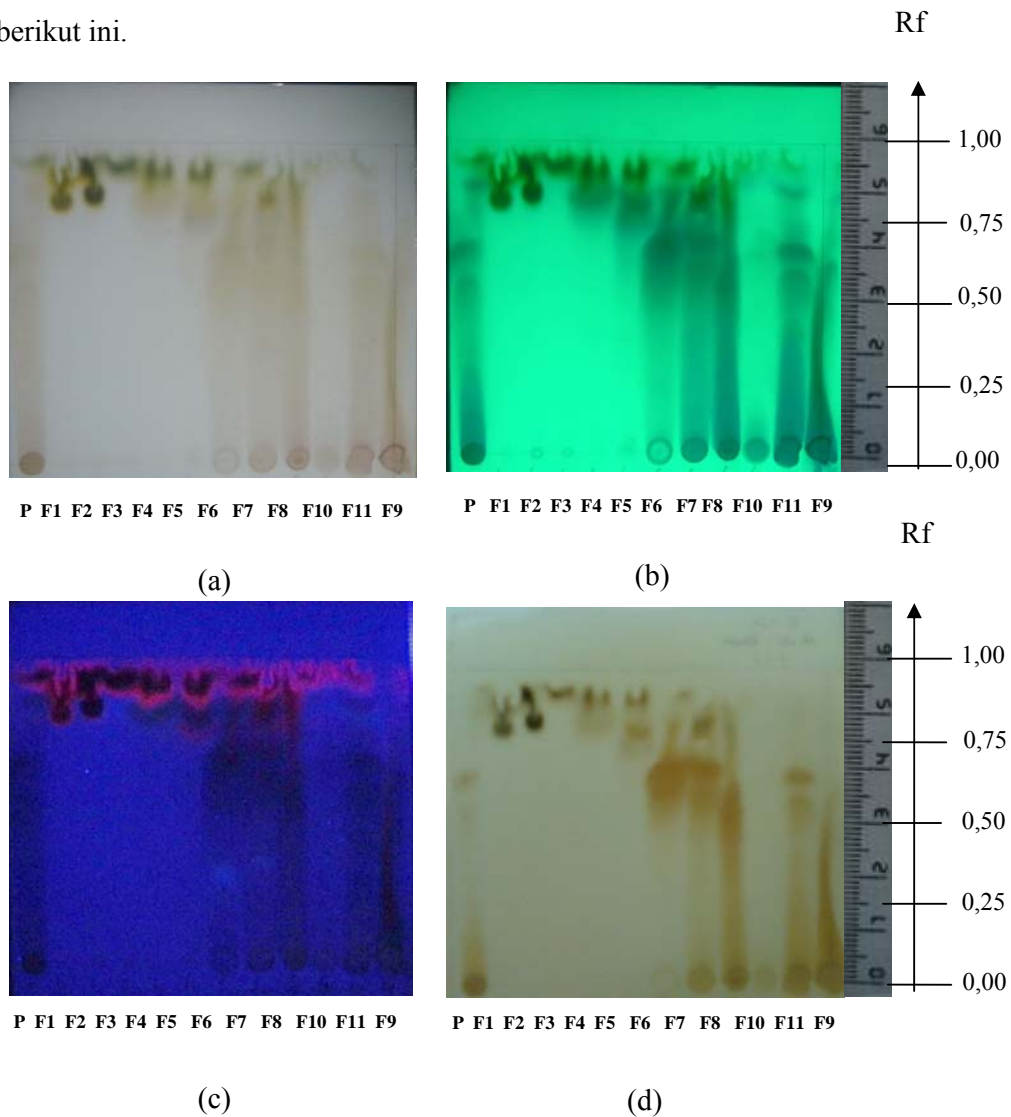
dibandingkan dengan bagian tidak larut eter. Hal ini mengindikasikan bahwa *Sa. typhimurium* lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa yang bersifat semipolar, sedangkan *S. aureus* lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa yang bersifat polar dari daun Senggani. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang sama, diameter zona hambat bagian tidak larut eter terhadap *S. aureus* lebih besar yaitu mencapai 17,15 mm pada konsentrasi 900 mg/mL, dibandingkan dengan diameter zona hambat bagian larut eter terhadap *Sa. typhimurium* yang diameter zona hambat terbesarnya hanya mencapai 14,53 mm pada konsentrasi 900 mg/mL. Selain itu, jumlah rendemen bagian tidak larut eter yang dihasilkan juga jauh lebih besar, yaitu sebanyak 105,20 gram (96,56 %), dibandingkan dengan bagian larut eter yang hanya mencapai 3,75 gram (3,44 %). Bagian tidak larut eter kemudian dipilih untuk diteruskan ujinya ke tahap selanjutnya, yaitu fraksinasi dengan metode VLC.

#### **D. Fraksinasi dan Uji Antimikroba Hasil Fraksinasi**

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode VLC terhadap bagian tidak larut eter. Fraksinasi dilakukan dengan fase gerak bertingkat dari pelarut yang kurang polar ke pelarut yang lebih polar sehingga didapatkan sebelas fraksi. Kandungan kimia dari kesebelas fraksi yang dihasilkan kemudian dipantau menggunakan KLT dengan fase gerak metanol : etil asetat (1:7 v/v).



Profil kromatografi hasil fraksinasi seperti ditunjukkan pada Gambar 7 berikut ini.



Gambar 7. Kromatogram fraksi daun Senggangi dengan deteksi (a) sinar visibel, (b) UV<sub>254</sub>, (c) UV<sub>366</sub>, dan (d) serum (IV) sulfat

Fase diam : silika gel GF<sub>254</sub>

Fase gerak: metanol : etil asetat 1:7 (v/v)

Jarak pengembangan: 6 cm

Fraaksi yang memiliki persamaan bercak dan nilai Rf dapat digabungkan menjadi satu karena dapat dikatakan memiliki kandungan kimia yang sama. Enam

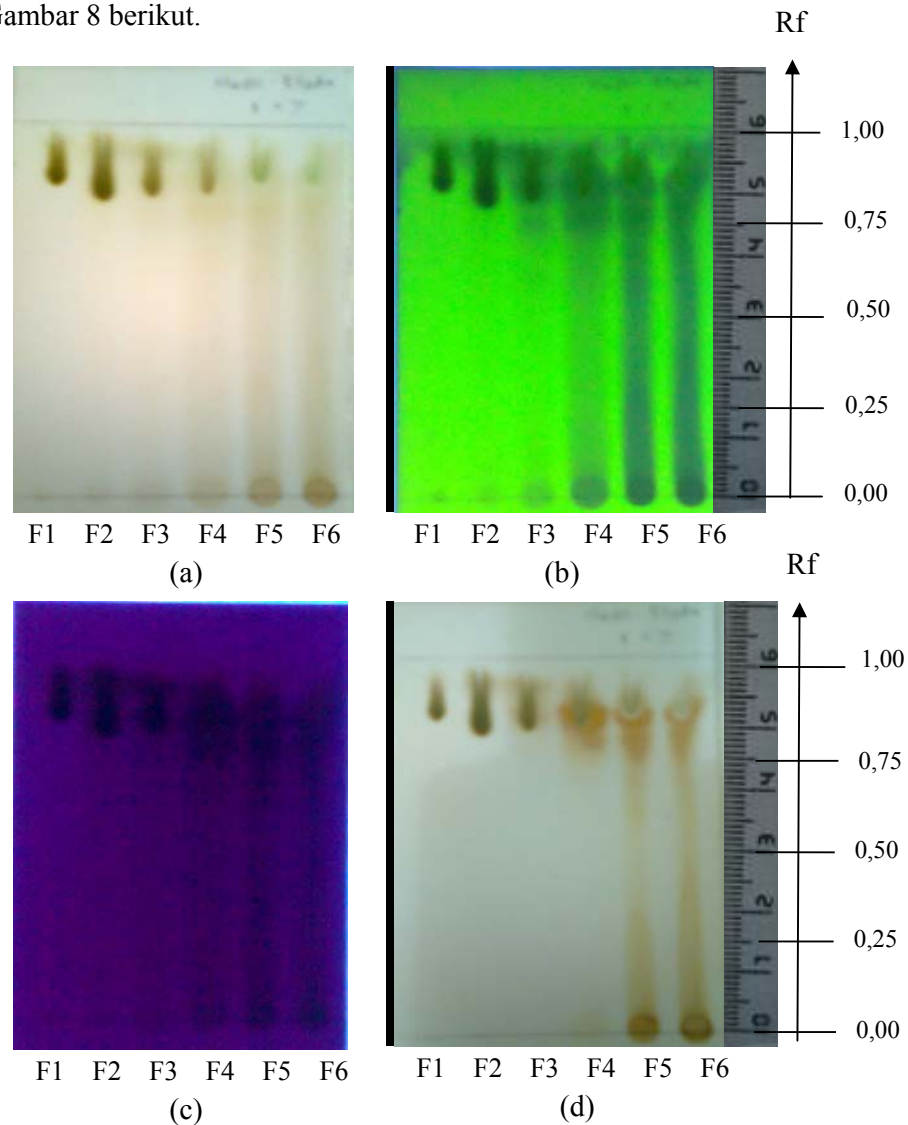
fraksi gabungan dihasilkan dari tahap fraksinasi dengan menggunakan perbandingan pelarut seperti yang tersaji pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Fraksi gabungan bagian tidak larut eter dari ekstrak metanol daun Senggani

Perbandingan Pelarut	Fraksi ke-	Massa total fraksi (gram)
CHCl <sub>3</sub> 100%	1	0,461
CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (2:1 v/v)		
CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:1 v/v)	2	0,594
CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:3 v/v)		
CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:5 v/v)	3	0,290
CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:9 v/v)	4	0,357
CHCl <sub>3</sub> : EtoAc (1:15 v/v)		
CHCl <sub>3</sub> : MeOH (1:1 v/v)		
CHCl <sub>3</sub> : MeOH (2:1 v/v)	5	8,870
CHCl <sub>3</sub> : MeOH (3:1 v/v)		
CHCl <sub>3</sub> : MeOH (6:1 v/v)		
MeOH 100%	6	2,628

Enam fraksi tersebut kemudian dipantau profil kandungan senyawa kimianya menggunakan KLT dengan fase gerak metanol : etil asetat (1:7 v/v). Deteksi dengan UV<sub>254</sub> menunjukkan bahwa adanya peredaman dengan latar belakang fluoresensi hijau yang mengindikasikan adanya senyawa dengan

minimal dua ikatan rangkap. Deteksi dengan  $UV_{366}$  menunjukkan adanya pendaran bercak berwarna merah lembayung, mengindikasikan adanya senyawa rangkap terkonjugasi (Harborne, 2006). Kromatogramnya seperti tampak pada Gambar 8 berikut.



Gambar 8. Kromatogram enam fraksi daun Senggangi dengan deteksi (a) sinar visibel, (b)  $UV_{254}$ , (c)  $UV_{366}$ , dan (d) serum (IV) sulfat  
 Fase diam : silika gel GF<sub>254</sub>  
 Fase gerak: metanol : etil asetat = 1:7 (v/v)  
 Jarak pengembangan: 6 cm

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 300 mg/mL bagian tidak larut eter memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dari 10 mm. Sesuai dengan yang dikemukakan oleh Davis dan Stout (1971), hal ini berarti bahwa bagian tidak larut eter memiliki aktivitas penghambatan yang tergolong kuat, baik terhadap *S. aureus* maupun *Sa. typhimurium*. Oleh karena itu, enam fraksi yang didapatkan kemudian diujikan terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* dengan menggunakan metode Kirby-Bauer (1966) dengan konsentrasi 300 mg/mL. Hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk seperti tersaji pada tabel 4 berikut ini.

Tabel 4. Hasil pengukuran zona hambat fraksi daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium* pada konsentrasi 300 mg/mL

Sampel yang diuji	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>Sa. typhimurium</i>
F1	0,00	1,27
F2	5,19	7,82
F3	8,85	3,02
F4	8,00	8,42
F5	9,59	13,07
F6	14,17	9,77
Kontrol eter	0,00	0,00
Kontrol metanol	0,00	0,00
Kontrol CMC (1 mg/mL)	0,00	0,00
Kontrol amoksisilin (2,5 mg/mL)	14,07	13,03

Keterangan:

: diameter zona hambat terbesar

Tabel 4 menunjukkan bahwa *S. aureus* sensitif terhadap hampir semua fraksi kecuali F1, dengan sensitivitas terbesar ditunjukkan terhadap F6 dengan diameter zona hambat 14,17 mm. Berbeda dengan sensitivitas *Sa. typhimurium*, semua fraksi yang diujikan menunjukkan adanya zona hambat dengan diameter

zona hambat terbesar terhadap F5 dengan diameter zona hambat sebesar 13,07 mm. Aktivitas penghambatan yang ditunjukkan F1 terhadap *Sa. typhimurium* tidak terdapat pada *S. aureus*. Sesuai dengan hasil uji difusi sebelumnya (Tabel 2), hal ini diduga disebabkan karena pada F1 masih terdapat senyawa-senyawa yang bersifat semipolar, dimana *Sa. typhimurium* lebih sensitif terhadap senyawa kimia dalam daun Senggani yang bersifat semipolar. Fraksi 5 dan F6 dipilih untuk selanjutnya dilakukan uji penetapan nilai MIC dan MBC terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.

#### **E. Uji MIC dan MBC Fraksi Teraktif**

Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri dan mikroorganisme lain merupakan perubahan di dalam hasil panen sel (penambahan total massa sel) dan bukan perubahan individu organisme. Pertumbuhan menyatakan pertambahan jumlah atau massa melebihi yang ada di dalam inokulum asalnya. Pengukuran diameter zona hambat pada uji difusi hasil fraksinasi (Tabel 4) menunjukkan bahwa F6 memiliki aktivitas penghambatan terbesar terhadap pertumbuhan *S. aureus*, sedangkan F5 memiliki aktivitas penghambatan terbesar terhadap pertumbuhan *Sa. typhimurium*. Aktivitas penghambatan tersebut dapat berupa bakteriostatik maupun bakterisidal. Menurut Jawetz *et al.* (2001), Mycek *et al.* (2001) dan Syarif *et al.* (2001), bakteriostatik merupakan kemampuan suatu senyawa untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dimana bakteri akan mampu melakukan pertumbuhan kembali jika senyawa tersebut dihilangkan. Bakteri akan terhambat pertumbuhannya selama senyawa tersebut masih ada. Bakterisidal merupakan kemampuan suatu senyawa

untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dimana bakteri tetap tidak akan memiliki kemampuan untuk melakukan pertumbuhan kembali walaupun senyawa tersebut telah dihilangkan.

Uji MIC dan MBC dilakukan untuk mengetahui apakah senyawa antimikroba pada F5 dan F6 bersifat bakteriostatik atau bakterisidal, serta menentukan nilai MIC dan MBC dari F5 terhadap *Sa. typhimurium* dan F6 terhadap *S. aureus*. Penetapan nilai MIC dan MBC penting dilakukan sebagai patokan untuk pemilihan konsentrasi yang tepat dan efektif bagi senyawa yang akan digunakan untuk keperluan pengobatan (Lim *et al.*, 2006).

Uji MIC dan MBC dilakukan pada konsentrasi 100-500 mg/mL. Hasil pengukuran absorbansi pada uji MIC dan MBC F5 terhadap *Sa. typhimurium* seperti tersaji pada Tabel 5 berikut ini.

Tabel 5. Hasil pengukuran absorbansi pada uji MIC dan MBC F5 terhadap *Sa. typhimurium*

Fraksi 5 (mg/mL)	OD1	OD2	$\Delta$ OD	Pertumbuhan bakteri		Aktivitas
				Setelah inkubasi	Uji lanjut	
100	0,2932	1,5120	1,2188	Tumbuh	-	-
200	0,9045	2,3118	1,4073	Tumbuh	-	-
300	1,0585	2,7372	1,6787	Tumbuh	-	-
400	2,1279	2,9597	0,8318	Tumbuh	-	-
500	2,7668	3,3113	0,5445	Tumbuh	-	-

Keterangan:

OD1 : *optical density* sebelum inkubasi

OD2 : *optical density* setelah inkubasi

$\Delta$ OD : selisih nilai OD1 dan OD2

- : tidak ada

Hasil pengukuran absorbansi (Tabel 5) menunjukkan bahwa F5 pada konsentrasi 100-500 mg/mL menunjukkan nilai  $\Delta OD$  positif. Hal ini berarti bahwa masih terdapat pertumbuhan bakteri setelah inkubasi, bahkan pada F5 pada konsentrasi 500 mg/mL. Oleh karena itu, pada penelitian ini nilai MIC dan MBC F5 dari ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* tidak dapat ditetapkan.

Hasil pengukuran absorbansi pada uji MIC dan MBC F6 terhadap *S. aureus* seperti tersaji pada Tabel 6 berikut ini.

Tabel 6. Hasil pengukuran absorbansi pada uji MIC dan MBC F6 terhadap *S. aureus*

Fraksi 6 (mg/mL)	OD1	OD2	$\Delta OD$	Pertumbuhan bakteri		Aktivitas
				Setelah inkubasi	Uji lanjut	
100	0,2932	1,3068	1,0136	Tumbuh	-	-
200	0,9045	1,5627	0,6582	Tumbuh	-	-
300	1,0585	1,6099	0,5514	Tumbuh	-	-
400	2,1279	2,0876	0	Tidak tumbuh	Tumbuh	Bakteriostatik
500	2,7668	2,1351	0	Tidak tumbuh	Tumbuh	Bakteriostatik

Keterangan:

OD1 : *optical density* sebelum inkubasi

OD2 : *optical density* setelah inkubasi

$\Delta OD$  : selisih nilai OD1 dan OD2

- : tidak ada

Hasil pengukuran absorbansi menunjukkan bahwa setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, pada konsentrasi 100-300 mg/mL nilai  $\Delta OD$  positif. Hal ini berarti bahwa pada tersebut masih terdapat pertumbuhan *S. aureus*. Sebaliknya, hasil pengukuran absorbansi pada konsentrasi 400 dan 500 mg/mL menunjukkan bahwa nilai  $\Delta OD$  negatif (dalam hal ini dianggap nol), yang berarti

bahwa pertumbuhan *S. aureus* tidak terjadi. Oleh karena itu, dapat ditetapkan bahwa nilai MIC F6 terhadap *S. aureus* sebesar 400 mg/mL. Berikutnya dilakukan uji lanjut untuk menetapkan nilai MBC F6 terhadap *S. aureus*.

Uji lanjut dilakukan dengan mensubkultur bakteri dalam tabung konsentrasi 400 dan 500 mg/mL pada media MHA selama 24 jam. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bakteri yang diambil dari konsentrasi 400 maupun 500 mg/mL masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Hal ini berarti bahwa F6 pada konsentrasi 400 dan 500 mg/mL bersifat bakteristatik terhadap *S. aureus*, sehingga nilai MBC tidak dapat ditetapkan.

#### **F. Deteksi Golongan Senyawa Fraksi Teraktif**

Deteksi golongan senyawa dilakukan terhadap F5 dan F6 dari ekstrak metanol daun Senggani. Deteksi golongan senyawa dilakukan dengan KLT, dengan fase gerak metanol : etil asetat : wasbensin (2:1:1 v/v) untuk F5 dan metanol : kloroform : wasbensin (2:1:1 v/v) untuk F6. Pengamatan yang dilakukan pada  $UV_{254}$  dan  $UV_{366}$  belum memberikan informasi yang lengkap, terutama untuk mengetahui keberadaan senyawa yang tidak dapat berpondar. Oleh karena itu untuk memperoleh informasi keberadaan senyawa yang tidak dapat berpondar, pengamatan dilakukan dengan memberikan pereaksi semprot pada lempeng KLT tersebut.

Pereaksi semprot yang digunakan yaitu  $FeCl_3$  untuk mendeteksi adanya senyawa tanin dan fenolat,  $AlCl_3$  untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid, vanilin asam sulfat untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid,  $SbCl_3$  untuk mendeteksi adanya senyawa saponin, Lieberman-Burchard untuk mendeteksi



adanya senyawa steroid dan terpenoid, serta serium (IV) sulfat untuk mendeteksi adanya senyawa organik (Santosa dan Hertiani, 2005, Harborne, 2006, Permana, 2009). Hasil uji golongan senyawa kimia pada F5 dan F6 seperti tersaji pada tabel 7 berikut ini.

Tabel 7. Hasil uji golongan senyawa kimia pada F5 dan F6

Fraksi yang diuji	Pereaksi semprot spesifik					
	FeCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub>	Vanilin H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	SbCl <sub>3</sub>	Lieberman Burchad	Serium (IV) sulfat
F5	+	-	-	-	-	+
F6	+	-	-	-	-	+

Keterangan:

+ : hasil positif

- : hasil negatif

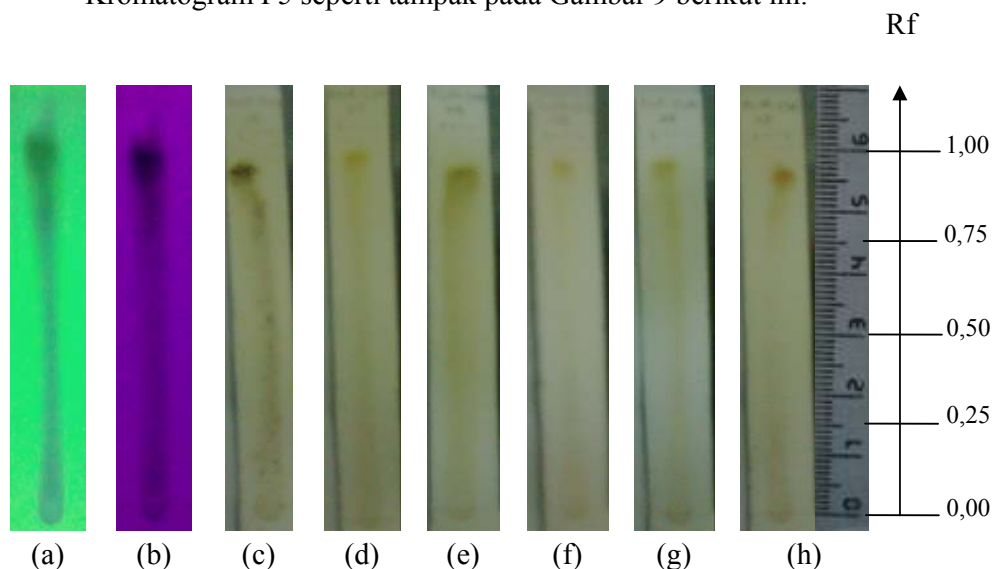
Pereaksi semprot AlCl<sub>3</sub> digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid. Sampel dinyatakan positif mengandung senyawa golongan flavonoid jika terbentuk fluoresensi hijau kuning dengan sinar UV<sub>366</sub> setelah penyemprotan (Harborne, 2006). Deteksi dengan AlCl<sub>3</sub> menunjukkan hasil negatif yang mengindikasikan bahwa baik F5 dan F6 tidak mengandung senyawa golongan flavonoid.

Pereaksi semprot vanilin asam sulfat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid. Sampel dikatakan positif mengandung senyawa golongan terpenoid jika terbentuk warna ungu, biru, biru-ungu, atau orange ke merah ungu setelah dilakukan penyemprotan (Harborne, 2006). Deteksi dengan vanillin asam sulfat menunjukkan hasil negatif yang mengindikasikan bahwa baik F5 dan F6 tidak mengandung senyawa golongan terpenoid.

Pereaksi semprot  $\text{SbCl}_3$  digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa saponin. Sampel dikatakan positif mengandung saponin jika terbentuk warna merah violet setelah disemprot dengan  $\text{SbCl}_3$  (Santosa dan Hertiani, 2005). Deteksi dengan  $\text{SbCl}_3$  menunjukkan hasil negatif yang mengindikasikan bahwa F5 dan F6 tidak mengandung senyawa golongan saponin.

Lieberman-Burchad digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa steroid dan terpenoid. Sampel dikatakan positif mengandung steroid jika terbentuk warna biru dan dinyatakan positif mengandung terpenoid jika terbentuk warna merah (Permana, 2009). Deteksi dengan Lieberman-Burchad menunjukkan hasil negatif yang mengindikasikan bahwa F5 dan F6 tidak mengandung senyawa golongan steroid dan terpenoid.

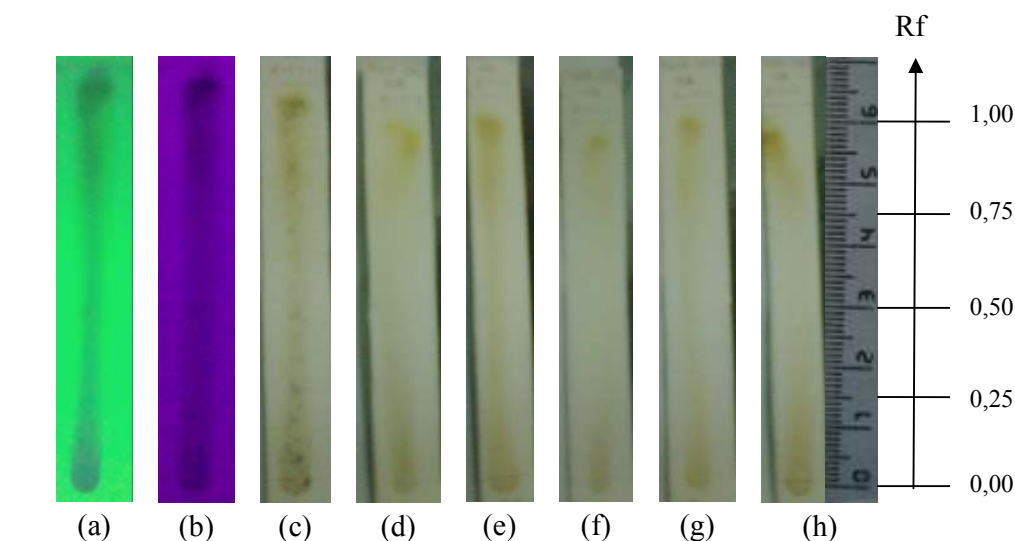
Kromatogram F5 seperti tampak pada Gambar 9 berikut ini.



Gambar 9. Kromatogram F5 dengan deteksi (a)  $\text{UV}_{254}$ , (b)  $\text{UV}_{366}$ , (c)  $\text{FeCl}_3$ , (d)  $\text{AlCl}_3$ , (e) Vanilin  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , (f)  $\text{SbCl}_3$ , (g) Lieberman-Burchad dan (h) serum (IV) sulfat  
 Fase diam : silika gel  $\text{GF}_{254}$   
 Fase gerak: metanol : etil asetat : wasbensin = 2:1:1 (v/v)  
 Jarak pengembangan: 6 cm

Kromatogram (Gambar 9) menunjukkan bahwa uji golongan senyawa kimia terhadap F5 menunjukkan hasil negatif terhadap semua pereaksi spesifik yang diujikan kecuali  $\text{FeCl}_3$  dan serum (IV) sulfat. Fraksi 5 menunjukkan adanya reaksi positif terhadap reagen  $\text{FeCl}_3$  dengan terbentuk warna biru-kehitaman. Deteksi dengan sinar  $\text{UV}_{254}$  menunjukkan adanya peredaman dengan latar belakang fluoresensi hijau, sedangkan deteksi dengan sinar  $\text{UV}_{366}$  menunjukkan adanya pendaran berwarna merah lembayung dengan harga  $R_f$  0,94.

Identifikasi golongan senyawa kimia juga dilakukan terhadap F6. Kromatogram F6 seperti tampak pada Gambar 10 berikut ini.



Gambar 10. Kromatogram F6 dengan deteksi (a)  $\text{UV}_{254}$ , (b)  $\text{UV}_{366}$ , (c)  $\text{FeCl}_3$ , (d)  $\text{AlCl}_3$ , (e) Vanilin  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , (f)  $\text{SbCl}_3$ , (g) Lieberman-Burchard dan (h) serum (IV) sulfat

Fase diam : silika gel  $\text{GF}_{254}$

Fase gerak: metanol : kloroform : wasbensin = 2:1:1 (v/v)

Seperti pada F5, kromatogram (Gambar 10) menunjukkan bahwa uji golongan senyawa kimia terhadap F6 menunjukkan hasil negatif terhadap semua pereaksi spesifik yang diujikan kecuali  $\text{FeCl}_3$  dan serum (IV) sulfat. Fraksi 6

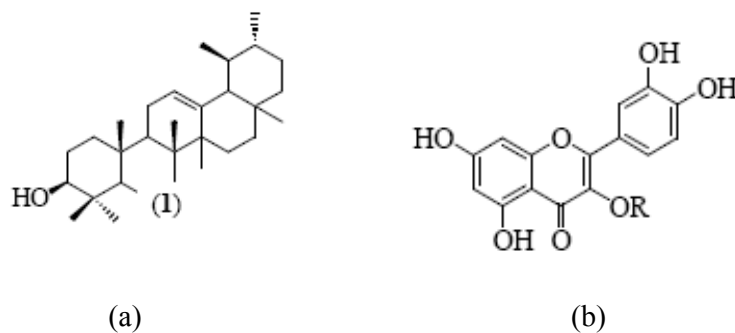
menunjukkan adanya reaksi positif terhadap reagen  $\text{FeCl}_3$  dengan terbentuk warna biru-kehitaman. Deteksi dengan sinar  $\text{UV}_{254}$  menunjukkan adanya peredaman dengan latar belakang fluoresensi hijau, sedangkan deteksi dengan sinar  $\text{UV}_{366}$  menunjukkan adanya pendaran berwarna merah lembayung dengan harga  $R_f$  0,94.

Menurut Syarifuddin (1994), perubahan warna yang terjadi pada penambahan  $\text{FeCl}_3$  dimungkinkan karena terbentuknya kompleks  $\text{Fe}^{3+}$ -tanin atau  $\text{Fe}^{3+}$ -polifenol. Atom oksigen pada tanin dan polifenol mempunyai pasangan elektron bebas yang dapat mendonorkan elektronnya pada  $\text{Fe}^{3+}$  yang mempunyai orbital d kosong membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga menjadi suatu kompleks. Kompleks ini akan menimbulkan warna hijau, merah, biru atau hitam yang kuat apabila mengandung senyawa fenolat.

Menurut Jawetz *et al.* (2001), senyawa fenol dan derivatnya mampu menimbulkan denaturasi protein. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan integritas sitoplasma berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis.

Tanin terhidrolisis akan menunjukkan warna biru-hitam sedangkan tanin terkondensasi akan membentuk warna biru-hijau setelah penyemprotan  $\text{FeCl}_3$

pada plat KLT (Permana, 2009). Warna biru kehitaman yang terbentuk mengindikasikan bahwa tanin yang terdapat pada F5 maupun F6 daun Senggani adalah tanin terhidrolisis. Hal ini seperti yang telah dilaporkan Funatogawa *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa daun Senggani memiliki kandungan tanin terhidrolisis yang disebut sebagai Nobotanin B. Susanti *et al.* (2008) memaparkan bahwa selain nobotanin B, kandungan senyawa golongan tanin terhidrolisis yang terdapat pada daun Senggani antara lain malabathrins B, malabathrins C, malabathrins D, 1,4,6-tri-O-galloyl-D-glukosida, 1,2,4,6-tetra-O-galloyl- $\beta$ -D-glukosida, strictinin, casuarictin, pedunculagin, nobotanin D, pterocarinin, nobotanin G, nobotanin H, nobotanin J,  $\beta$ -sitosterol,  $\alpha$ -amyrin, uvaol, sitosterol-3-O- $\beta$ -Dglukopiranosid, quercetin, quercitrin dan rutin. Gambar 11 menunjukkan struktur bangun dari  $\alpha$ -amyrin, quercetin dan quercitrin.



Gambar 11. Struktur bangun (a)  $\alpha$ -amyrin dan (b) quercetin (R= H) serta quercitrin (R=Rha) (Susanti *et al.*, 2008)

Penelitian yang dilakukan oleh Funatogawa *et al.* (2004) melaporkan bahwa Senggani merupakan salah satu tumbuhan obat penghasil tanin terhidrolisis, yaitu nobotanin B, yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Helicobacter pylori*. Lim *et al.* (2006) memaparkan bahwa tanin terhidrolisis yang

diekstrak dari *Rhizophora apiculata* memiliki sifat antimikroba yang lebih besar terhadap bakteri dan yeast daripada tanin terkondensasi maupun campuran keduanya (tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi). Selain pengujian kualitatif berdasarkan KLT, pengujian adanya tanin dapat dilakukan dengan uji tabung menggunakan larutan garam gelatin dan  $\text{FeCl}_3$  sehingga diharapkan dengan adanya pengujian ini dapat memastikan bahwa tanin yang terkandung pada F5 dan F6 merupakan tanin terhidrolisis atau tanin terkondensasi.

Tanin mempunyai sifat sebagai pengelat, yang mampu mengerutkan selaput lendir usus sehingga gerak peristaltik usus berkurang (Ajizah, 2004). Selain itu, zat pengelat juga dapat mengerutkan membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Lim *et al.* (2006) memaparkan bahwa tanin terhidrolisis mampu menghambat pertumbuhan yeast dengan menghambat sintesis pembentukan membran sel dari dinding sel. Abnormalitas yang terjadi pada membran sel ini kemudian menyebabkan perubahan pada permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya. Sebagai akibatnya, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Selain melalui reaksi dengan membran sel, efek antimikroba tanin juga melalui inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Ajizah, 2004). Kemungkinan mekanisme inilah yang menyebabkan efek antimikroba yang ditimbulkan oleh daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *S. typhimurium*.

Hasil metabolit sekunder yang diisolasi dari daun Senggani diketahui memiliki aktivitas yang signifikan dalam memproteksi jaringan mukosa pada tikus putih, memiliki aktivitas antiviral, antihelmintik, antispasmodik, antioksidan, antifungal, antikanker, antihipertensi (Hussain *et al.*, 2008), antiinflamatori, antinosiseptif, dan antipiretik (Zakaria *et al.*, 2007, Mazura *et al.*, 2007), memiliki aktivitas antifungal terhadap berbagai fungi patogen seperti *Alternaria alternate*, *Curvularia lunata*, *Fusarium equiseti*, *Botrydiploia theobromae* dan *Colletrotrichum corchori* (Begum *et al.*, 2007) serta kandungan fenolnya memiliki aktivitas alelopati terhadap *Raphanus sativus* dan *Echinochloacrus galli* (Faravani *et al.* 2008). Ekstrak metanol 70% dari daun Senggani juga memiliki aktivitas penghambatan terhadap sintesis nitrit oksida yang berperan terhadap proses inflamasi (Ryu *et al.*, 2001). Antosianin yang diekstrak dari bunga Senggani, yaitu sianidin, memiliki aktivitas antioksidan, antikarsinogenik, antibakteri, antiviral serta banyak digunakan sebagai pewarna alami (See, 2008).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

1. Komponen senyawa daun Senggani memiliki aktivitas antimikroba teraktif terhadap *S. aureus* pada fraksi 6 konsentrasi 300 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 14,17 mm dan terhadap *Sa. typhimurium* pada fraksi 5 konsentrasi 300 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 13,07 mm.
2. Nilai MIC fraksi 6 terhadap *S. aureus* adalah 400 mg/mL dengan nilai MBC tidak dapat ditentukan, sedangkan nilai MIC dan MBC fraksi 5 terhadap *Sa. typhimurium* juga tidak dapat ditentukan.
3. Komponen senyawa daun Senggani yang berperan sebagai antimikroba termasuk dalam golongan fenolik, yaitu tanin dengan harga Rf 0,94.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian yang bersifat kuantitatif lebih lanjut untuk dapat menentukan nilai MBC fraksi 6 terhadap *S. aureus* serta nilai MIC dan MBC fraksi 5 terhadap *Sa. typhimurium*.
2. Perlu dilakukan isolasi, purifikasi serta elucidasi struktur kimia isolat murni dari fraksi 5 dan fraksi 6, sehingga dapat ditetapkan suatu struktur usulan dari senyawa tersebut.
3. Perlu dilakukannya penelitian di tingkat molekuler untuk mengetahui mekanisme penghambatan isolat murni dari fraksi 5 dan fraksi 6 daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae* 1( 1): 31-38.
- Ajizah, A., Thihana dan Mirhanuddin. 2007. Potensi Ekstrak Kayu Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Bioscientiae* 4(1): 37-42.
- Ali, D.M.H., K.C. Wong, dan L.P. Boey. 2003. Flavonoids from the Flowers of *Melastoma malabathricum*. *Laporan Penelitian*. School of Chemical Sciences, Universiti Sains Malaysia.
- Backer, C.A. and Bakhuizen V.d. Brink, Jr. 1968. *Flora of Java Volume 3*. Netherlands: Netherlands Organisation for the Advancement of Research.
- Begum, J., M. Yusuf, J.U. Chowdhury, S. Khan, and M.N. Anwar. 2007. Antifungal Activity of Forty Higher Plants against Phytopathogenic Fungi. *Bang. J. Microbiol* 24(1): 76-78.
- Coll, J.C. and B.F. Bowden. 1986. The Application of Vacuum liquid Chromatography to The Separation of Terpene Mixture. *J. Nat. Prod.* 49(5): 934-936.
- Cullimore, D.R. 2000. *Partical Atlas for Bacterial Identification*. Boca Raton: CRC Lewis Publishers.
- Davis W.W. and T.R Stout. 1971. Disc Plate Methode of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiol.* 22: 659-665.
- Depkes RI. 1995<sup>a</sup>. *Materia Medika Indonesia edisi VI*. Jakarta. Direktorat jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI.
- , 1995<sup>b</sup>. *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- , 2000. *Parameter Umum Standar Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Jakarta: Direktorat jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI.
- Dewajnee, S., A. Maiti, R. Majumdar, A. Majumdar and S.C. Mandal. 2008. Evaluation of Antimicrobial Activity of Hydroalcoholic Extract *Schima wallichii* Bark. *Pharm. online* 1: 523-528
- Dwidjoseputro, D. 1994. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.

- Faravani, M., H.B. Baki, and A. Khalijah. 2008. Assessment of Allelopathic Potential of *Melastoma malabathricum* on Radish *Raphanus sativus* and Barnyard Grass *Echinochloa crus galli*. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 36(2):54-60.
- Fessenden, R.J. 1993. *Organic Laboratory Techniques*. Belmont: Wadsworth Inc.
- Funatogawa, K., S. Hayashi, H. Shimomura, T. Yoshida, T. Hatano, H. Ito and Y. Hirai. 2004. Antibacterial Activity of Hydrolizable Tannins from Medicinal Plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.* 48(4), 251-261.
- Hadinegoro, S.R. 1999. Masalah *Multi Drug Resistance* pada Demam Tifoid. *CDK*. 124: 5-8.
- Handayani, D., N. Sayuti, dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epidioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans* Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II*: 297-305
- Harbone, J.B. 2006. *Metode Fitokimia Cetakan Keempat Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Sudiro*. Terbitan II. Penerbit ITB, Bandung.
- Hariaman, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolisme Sekunder edisi kedua Penerjemah Bambang Srigendono*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Hossan, M.S., A. Hanif, M. Khan, S. Bari, R. Jahan, and M. Rahmatullah. 2009. Enthobotanical Survey of the Tripura Tribe of bangladesh. *Am-Eu J. Sustain. Agric.*, 3(2): 253-261.
- Hostettmann, K., M. Hostettmann and A. Marston. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hussain, F., M.A. Abdulla, S.M. Noor, S. Ismail and H.M. Ali. 2008. Gastroprotective Effects of *Melastoma malabathricum* Aqueous Leaf Extract againsts Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Am. J. Biochem. & Biotech.* 4 (4): 438-441.
- Janna. O.A., Khairul A, Maziah M., Mohd Y. 2006. Flower pigment analysis of *Melastoma malabathricum*. *Af. J. Biotechnol.* 5 (2): 170-174.

- Jawetz, E., J.L. Melnick, and E.A. Adelberg. 2001. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Mikrobiology) Diterjemahkan oleh H. Tomang*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Katzung, B.G. 1989. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Kusmiyati, N.W.S., dan Agustini. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas* 8 (1): 48-53.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Pudding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp. *Laporan Penelitian*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Lim, S.H., I. Darah, and K. Jain. 2006. Antimicrobial of Tannins Extracted from *Rhizophora apiculata* Barks. *J.Tropical Forest Science* 18(1): 59-65.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami diterjemahkan oleh Koensomardiyah*. Semarang: Penerbit IKIP.
- Mazura, M.P., D. Susanti and M.A. Radasah. 2007. Anti-inflammatory Action of Components from *Melastoma malabathricum*. *Pharmacol. Biol.* 45(5): 372-375.
- Mojab, F., M. Poursaeed, H. Mehrgan and S. Pakdaman. 2008. Antibacterial Activity of *Thymus daenensis* methanolic Extract. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 21 (3): 210-213.
- Morin R.B. and M. Gorman 1995. *Kimia dan Biologi Antibiotik  $\beta$ -Lactam (Chemistry and Biology of  $\beta$ -Lactam Antibiotics)*. Edisi III. Diterjemahkan oleh Mulyani S. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat Edisi 5*. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Mycek, M.J., R.A. Harvey, P.C. Champe, and B.D. Fisher. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar edisi kedua Diterjemahkan oleh A. Agoes*. Jakarta: Penerbit Widya Medika.
- Noor, S.M., M. Poeloengan, dan T. Yulianti. 2006. Analisis Senyawa Kimia Sekunder dan Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L) terhadap *Salmonella typhi* dan *Shigella boydii*. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2006*.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press.

- Pelletier, S.W., H.P. Chokshi, and H.K. Desao. 1986. Separation of Diterpenoid Alkaloid Mixture Using Vacuum Liquid Chromatography. *J. Nat. Prod* 49(5): 892-900.
- Permana, A.R. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Pieters, L.A.C. and A.J. Vlietinck. 1989. Vacuum Liquid Chromatography and Quantitative <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy of Tumor Promoting Diterpene Ester. *J. Nat. Prod.* 52(1): 186-190.
- Prianto, E., R. Jhonnerie, R. Firdaus, T. Hidayat dan Miswadi. 2006. Keanekaragaman Hayati dan Struktur Ekologi Mangrove Dewasa di Kawasan Pesisir Kota Dumai - Propinsi Riau. *Biodiv.* 7( 4): 327-332.
- Purnomo, A., H. Khusnan, S.I.O Salasia dan Soegiyono. 2006. Isolasi dan Karakterisasi *Staphylococcus aureus* Asal Susu Kambing Peranakan Ettawa. *MKH.* 22(3): 142-146.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikrobial*. Jakarta: Bumi Aksara
- Rahayu, W.P. 2000. Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri terhadap Bakteri Patogen dan Perusak. *Bul. Teknol. dan Industri Pangan* 11(22): 42-48.
- Renner, S.S. and K. Meyer. 2001. Melastomeae Come Full Circle: Biogeographic Reconstruction and Molecular Clock Dating. *Evol.* 55(7): 1315–1324.
- Retnaningtyas, E dan S. Mulyani. 2008. Uji Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D. Don) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*. *Laporan Penelitian*. Surakarta: LPPM UNS.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rostinawati, T. 2007. Uji Aktivitas Penyarian Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Beberapa Mikroba Penyebab Infeksi Kulit. *Karya Ilmiah*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran.
- Ryu, J.H., H. Ahn, H.J. Lee, L. Feng, W.H. Qun, Y.N. Han and B.H. Han. 2001. Inhibitory Activity of Chinese Medical Plants of Nitric Oxide Synthesis in lipopolysaccharide-Activated Macrophages. *J. Pharmacol.* 9: 183-187.
- Santosa, C.M. dan T. Hertiani. 2005. Kandungan Senyawa Kimia dan Efek Ekstrak Air Daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus*, L.) pada Aktivitas

Fagositosis Netrofil Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Majalah Farmasi Indonesia* 16(3): 141-148.

Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty.

See, K.S. 2008. Establishment of Cell Suspension Culture of *Melastoma malabathricum* L. for the Production of Anthocyanin. *Thesis*. University Sains Malaysia.

Sembiring, B.B., Ma'mun, dan E.I. Ginting. 2006. Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi terhadap Mutu Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Bul. Littro*. 17( 2): 53 – 58.

Sentra Informasi IPTEK, 2009. *Senggani (Melastoma candidum* D. Don). [http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?mnu=2&id=156](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=156). [09 April 2009]

Sjajurrahman, A., W. Kumala, dan T. Nurjadi. 1999. Kepekaaan Kuman terhadap Antibiotika Golongan Kuinolon dan Sefalosporin. *CDK* 124: 17-20.

Srijanto, B., I. Rosidah, E. Ris, G. Syabirin, Aan, dan Mahreni. 2004. Pengaruh Waktu, Suhu dan Perbandingan Bahan Baku-Pelarut pada Ekstraksi Kurkumin dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Pelarut Aseton. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses*: 1-5.

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Soedira. Bandung: ITB.

Starr, F., K. Starr and L. Loope. 2003. *Melastoma candidum* Asian Melastome Melastomataceae. Laporan *Penelitian*. United States Geological survey-Biological Resources Division Haleakala Field Station, Maui, Hawai'i.

Stemmermann. 2009. *Melastomataceae*. <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/melastomat.htm> [20 April 2008]

Sujudi. 1983. Apa yang harus Dilakukan Sebelum Mendapat Hasil Resistensi. *CDK* 30: 10-13.

Sudjaswadi, R. 2006. Peningkatan Efek Bakteriostatika Dispersi Padat Tetrasiklin HCl-Polieten Glikol 6000-tween 80 (PT). *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(2): 98-103.

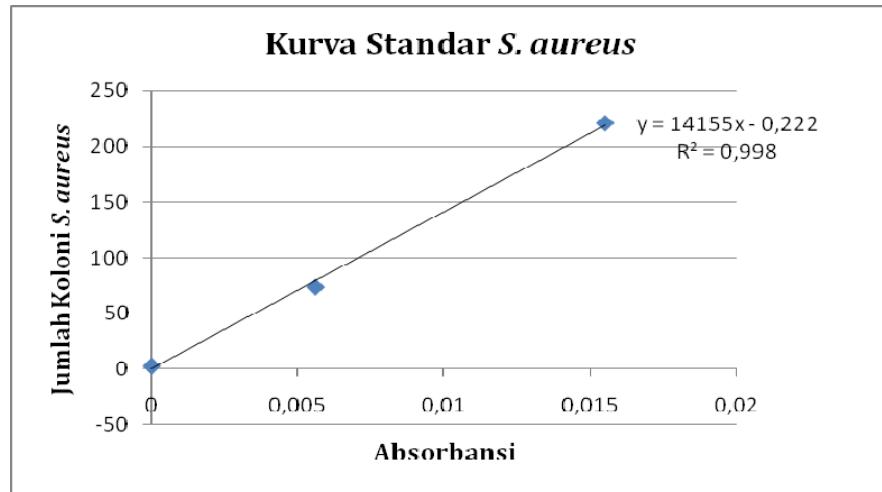
Susanti, D., H.M. Sirat, F. Ahmad, R.M. Ali. 2008. Bioactive Cionstituents from the Leaves *Melastoma malabathricum*. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 5(1): 1-7.

- Syarif, A., A. Setiawati, A. Muchtar, A. Arif, B. Bahry, B. Suharto, D. Tirza, F. D. Suyatna, H.R. Dewoto, H. Utama, I. Darmansjah, L.S. Kunardi, M.S.S. Wiria, Nafrialdi, P.F. Wilmana, Z.S. Bustami, P. Ascobat, R. Setiabudy, S.O. Santoso, S.K. Suherman, S.Sukarban, R. Sunaryo, S. Wardhini, S.G. Ganiswara, T. Handoko, U. Sjamsudin, V.H.S. Ganiswarna, Y. Mariana, Y.H. Istiantoro, dan J. Zubaidi. 2001. *Farmakologi dan Terapi edisi 4*. Jakarta: Gaya Baru.
- Syarifuddin, N. 1994. *Ikatan Kimia cetakan pertama*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tensiska, Marsetio, dan S.O.N. Yudiastuti. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu. *Laporan Penelitian*. Bandung: FTIP Universitas Padjadjaran.
- Tjay, T.H., dan K. Rahardja. 2002. *Obat-obat Penting Khasiat Penggunaann dan Efek Sampingnya Edisi Kelima*. Jakarta: PT Gramedia.
- Triatmodjo, P. 1994. Distribusi Geografis Pola Resistensi *Salmonella* terhadap Khloramfenikol dan Antibiotik Pilihan Lainnya di Daerah Jakarta dan Palembang. *CDK 93*: 56-59.
- Wang, Y.C dan H.W. Hsu. 2007. Inhibitory Effect of *Melastoma candidum* D.Don Acetone Extract on Foodborne Pathogenic Bacteria Survival in Food Products. *J. Food Protection 79(7)*: 1600-1606.
- Williams, R.A.D., P.A. Lambert, and P. Singleton. 1996. *Antimicrobial Drug Action*. Oxford: Information Press Ltd.
- Winarno, M.W. dan D. Sundari. 1996. Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Diare di Indonesia. *CDK 109*: 26-33.
- Yuharmen, Y. Ernayati, dan Nurbalatif. 2002. Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Legkuas (*Alpinia galanga*). *Laporan Penelitian*. Riau: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau.
- Zakaria, Z.A., R.N.S.R.M. Noor, G.H. Kumar, Z.D.F.A. Ghani, M.R. Sulaiman, G.R. Devi, A.M.M. Jais, M.N. Somchit and D.A. Fatimah. 2007. Antinociceptive, Anti-inflammatory and Antipyretic Properties of *Melastoma malabathricum* Leaves Aqueous Extract in Experimental Animals. *Can. J. Physiol. Pharmacol. 84(12)*: 1291-1299.

LAMP IRAN

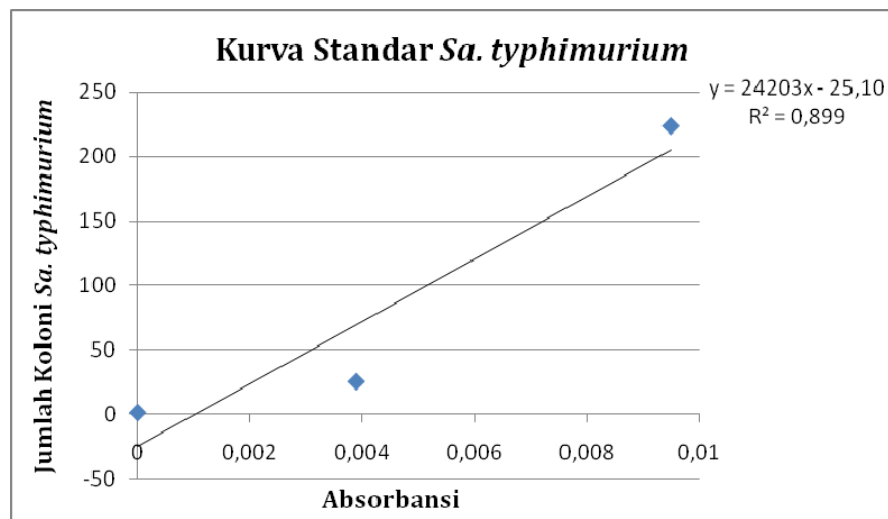
Lampiran 1. Hasil perhitungan kurva standar *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

a. Hasil perhitungan kurva standar *S. aureus*



Pengenceran	Absorbansi	Jumlah koloni
5	0,0095	223
7	0,0039	25
8	0	1

b. Hasil perhitungan kurva standar *Sa. typhimurium*

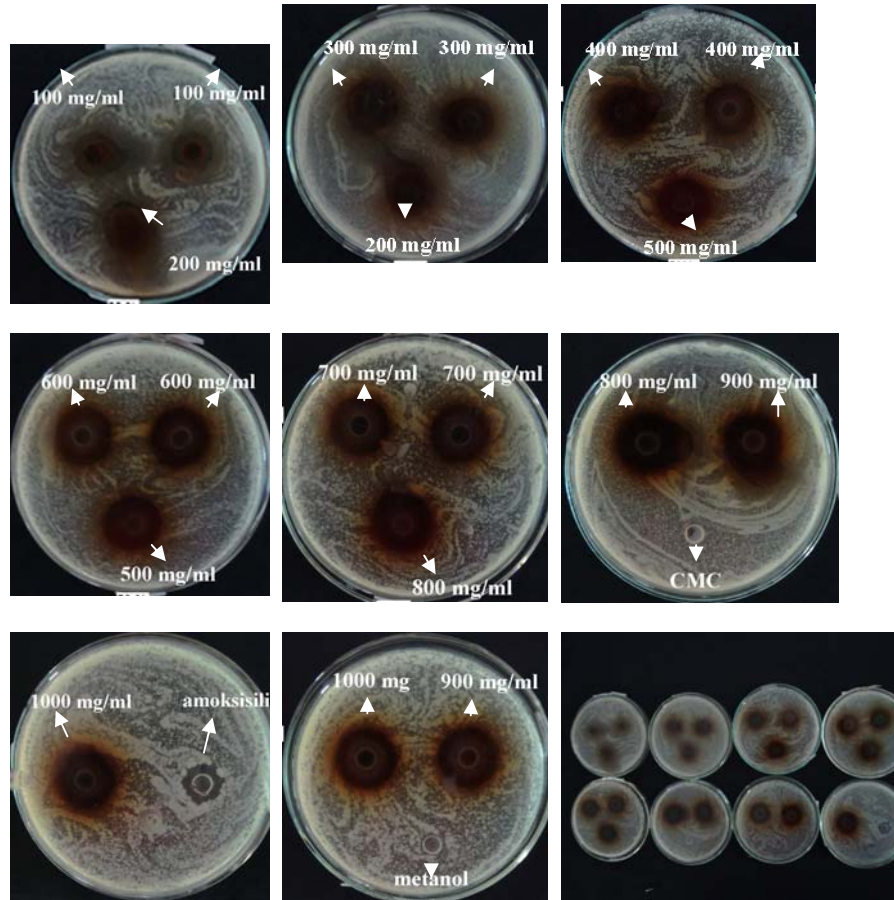


Pengenceran	Absorbansi	Jumlah koloni
4	0,0155	221
6	0,0056	74
7	0	3

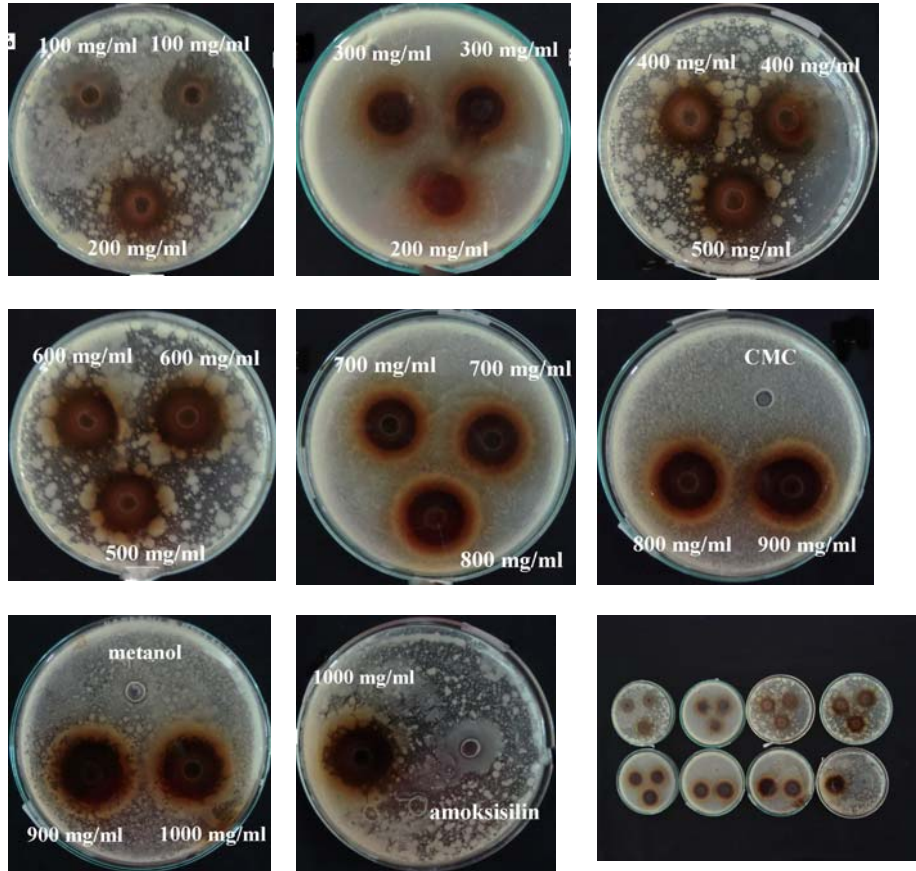


Lampiran 2. Hasil uji antimikroba ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

a. Hasil uji antimikroba ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus*



b. Hasil uji antimikroba ekstrak metanol daun Senggani terhadap *Sa. typhimurium*

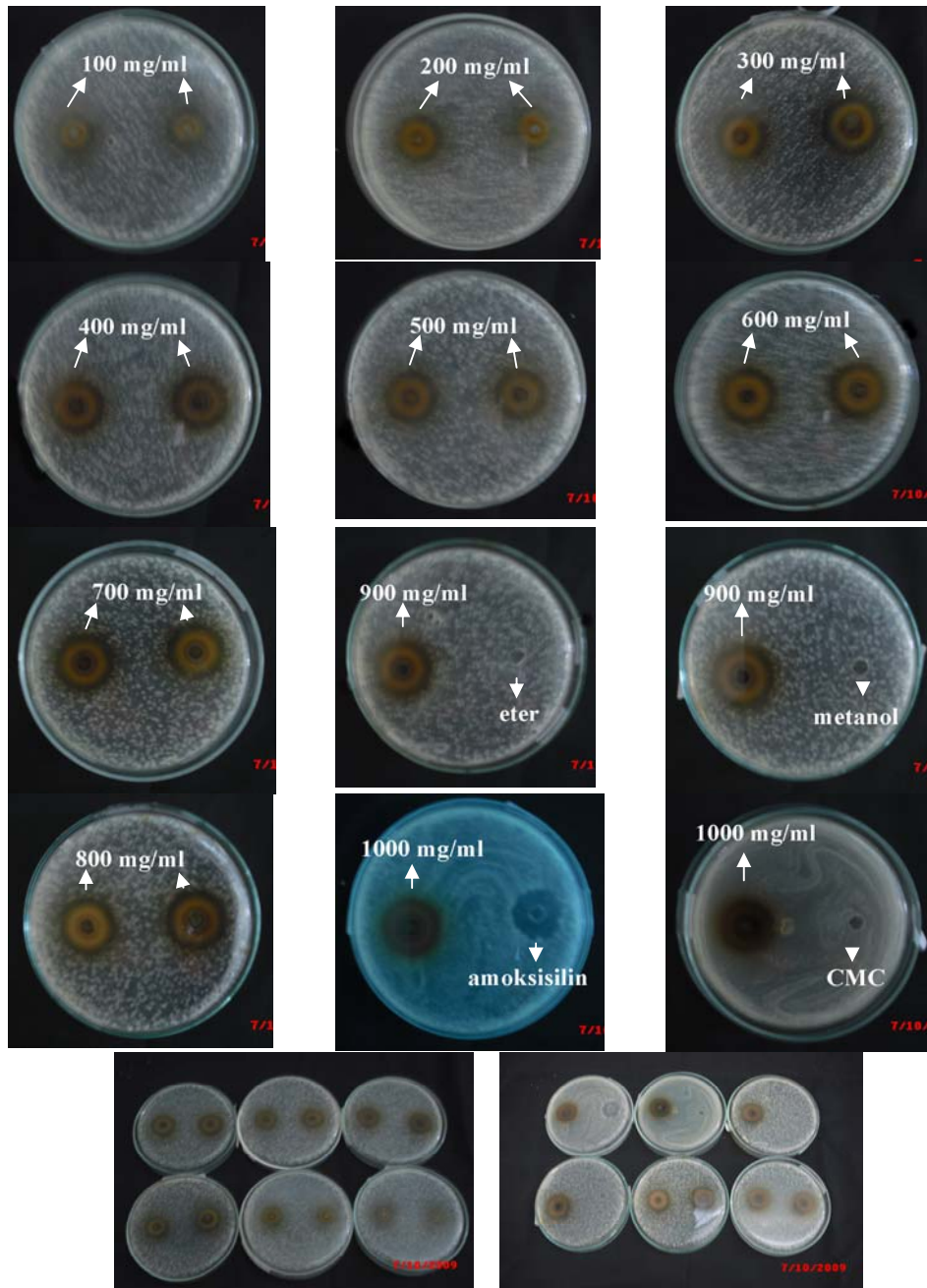


Lampiran 3. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak metanol daun Senggani terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

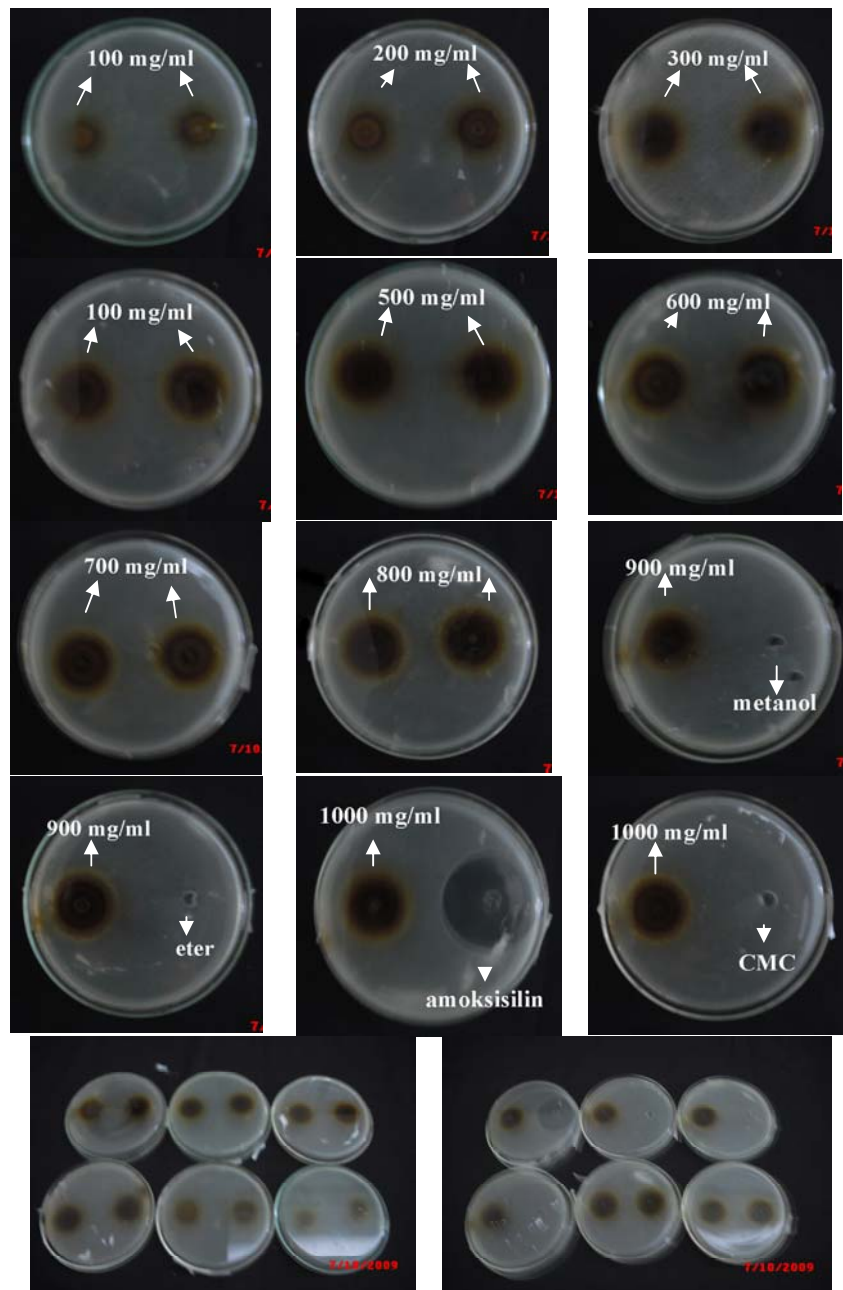
Sampel		<i>S. aureus</i>			<i>Sa. typhimurium</i>		
		I	II	X	I	II	X
Esktrak (mg/mL)	100	7,17	8,80	<b>7,985</b>	6,90	4,30	<b>5,600</b>
	200	10,63	10,57	<b>10,600</b>	8,73	8,73	<b>8,730</b>
	300	10,27	11,20	<b>10,735</b>	9,80	8,93	<b>9,635</b>
	400	10,90	11,97	<b>11,435</b>	11,77	13,63	<b>12,700</b>
	500	11,57	13,13	<b>12,350</b>	13,53	11,80	<b>12,665</b>
	600	13,13	13,00	<b>13,065</b>	13,63	14,23	<b>13,930</b>
	700	12,53	12,90	<b>12,715</b>	10,60	10,77	<b>10,685</b>
	800	12,20	13,47	<b>12,835</b>	13,27	12,90	<b>13,085</b>
	900	13,90	13,77	<b>13,835</b>	13,30	15,93	<b>14,615</b>
	1000	13,27	13,37	<b>13,320</b>	13,97	13,03	<b>13,500</b>
Amoksisilin (2,5 mg/mL)		-	5,40	<b>5,400</b>	-	12,030	<b>12,030</b>
Metanol		-	0,00	<b>0,000</b>	-	0,00	<b>0,000</b>
CMC (1 mg/mL)		-	0,00	<b>0,000</b>	-	0,00	<b>0,000</b>

Lampiran 4. Hasil uji antimikroba bagian tidak larut eter terhadap *S. aureus* dan *Sa.typhmurium*

a. Hasil uji antimikroba bagian tidak larut eter terhadap *S. aureus*



b. Hasil uji antimikroba bagian tidak larut eter terhadap *Sa. typhimurium*

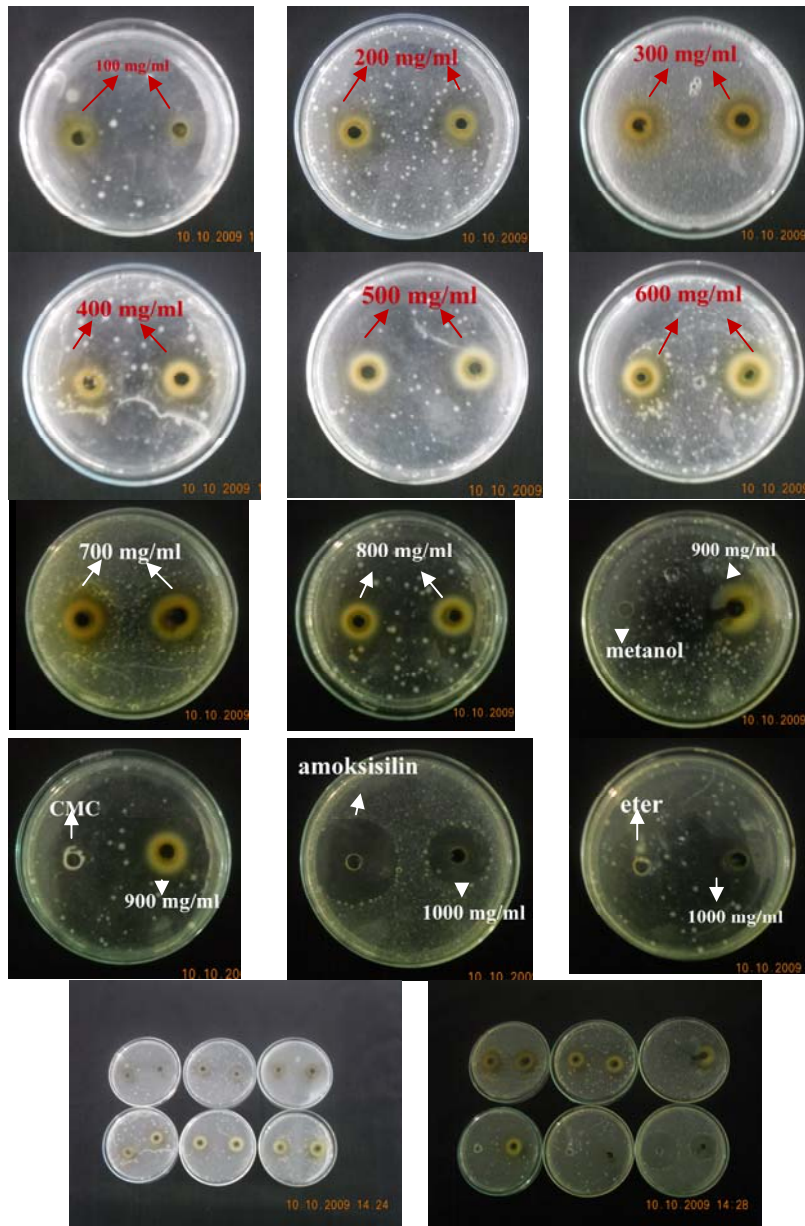


Lampiran 5. Hasil pengukuran zona hambat bagian tidak larut eter terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

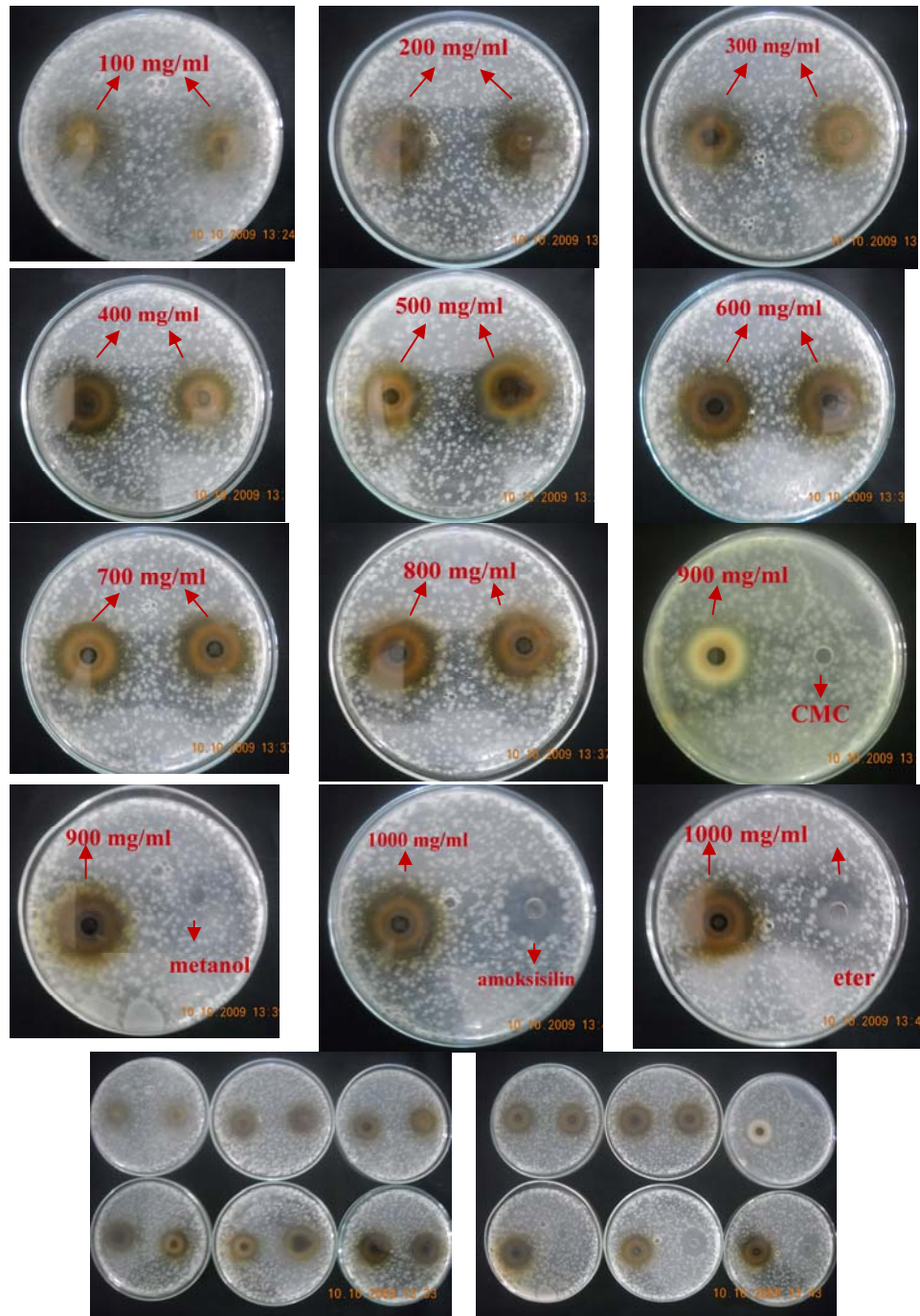
Sampel		<i>S. aureus</i>			<i>Sa. typhimurium</i>		
		I	II	X	I	II	X
Bagian tidak larut eter (mg/mL)	100	9,67	9,73	<b>9,70</b>	7,70	6,70	<b>6,85</b>
	200	12,03	11,13	<b>11,58</b>	10,20	10,63	<b>10,42</b>
	300	14,10	16,60	<b>15,35</b>	11,43	11,93	<b>11,68</b>
	400	14,86	14,63	<b>14,75</b>	12,53	12,37	<b>12,45</b>
	500	14,00	14,33	<b>14,17</b>	12,37	12,43	<b>12,40</b>
	600	15,20	15,23	<b>15,22</b>	12,63	13,43	<b>13,03</b>
	700	16,30	15,83	<b>16,07</b>	12,90	12,97	<b>12,94</b>
	800	17,13	15,83	<b>16,48</b>	14,10	13,97	<b>14,04</b>
	900	17,07	17,23	<b>17,15</b>	13,83	12,80	<b>13,32</b>
	1000	16,37	16,80	<b>16,59</b>	13,10	13,53	<b>13,32</b>
Amoksisilin (2,5 mg/mL)		-	8,43	<b>8,43</b>	-	25,60	<b>25,60</b>
Metanol		-	0,00	<b>0,00</b>	-	0,00	<b>0,00</b>
CMC (1 mg/mL)		-	0,00	<b>0,00</b>	-	0,00	<b>0,00</b>



a. Hasil uji antimikroba bagian larut eter terhadap *S. aureus*



b. Hasil uji antimikroba bagian larut eter terhadap *Sa. typhimurium*



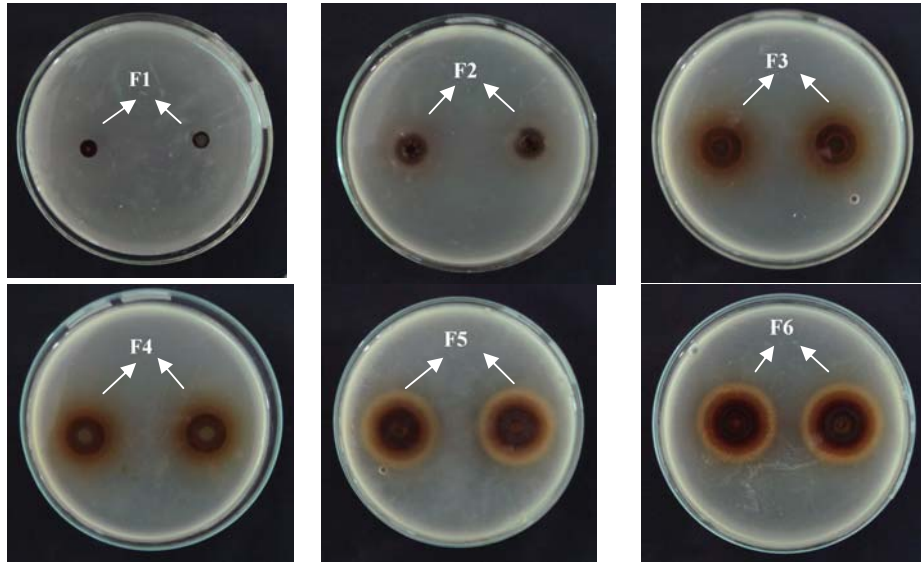


Lampiran 7. Hasil pengukuran zona hambat bagian larut eter terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

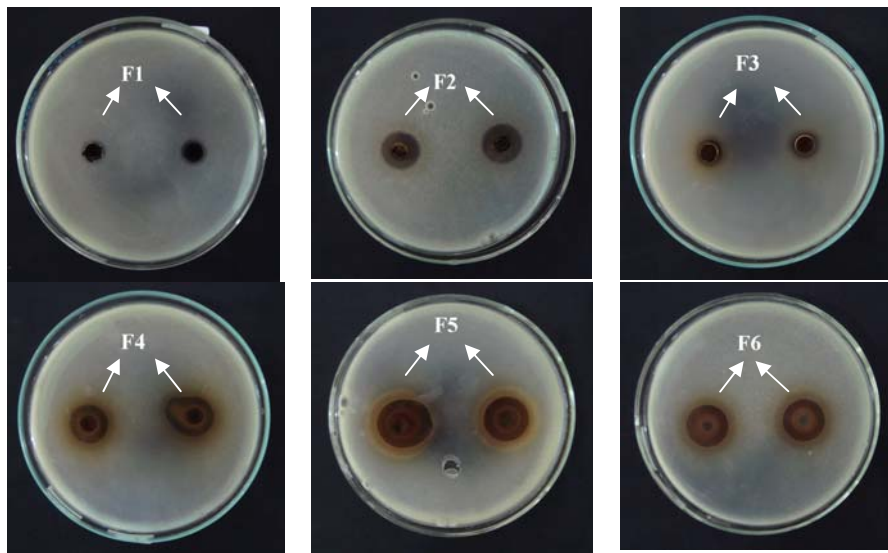
Sampel		<i>S. aureus</i>			<i>Sa. typhimurium</i>		
		I	II	X	I	II	X
Bagian larut eter (mg/mL)	100	5,67	5,63	<b>5,65</b>	11,10	9,43	<b>10,27</b>
	200	7,80	8,20	<b>8,00</b>	10,53	11,23	<b>10,88</b>
	300	9,67	9,17	<b>9,42</b>	14,13	14,20	<b>14,17</b>
	400	10,67	10,67	<b>10,67</b>	13,23	14,67	<b>13,95</b>
	500	11,30	11,06	<b>11,18</b>	12,17	10,93	<b>11,55</b>
	600	11,37	11,60	<b>11,49</b>	11,50	11,37	<b>11,44</b>
	700	13,97	12,06	<b>13,02</b>	14,53	14,53	<b>14,53</b>
	800	12,23	13,20	<b>12,72</b>	13,60	13,10	<b>13,35</b>
	900	12,63	13,57	<b>13,10</b>	14,67	13,93	<b>14,30</b>
	1000	11,43	13,10	<b>12,27</b>	12,63	12,60	<b>12,62</b>
Amoksisilin (2,5 mg/mL)		-	30,30	<b>30,30</b>	-	10,90	<b>10,90</b>
Metanol		-	0,00	<b>0,00</b>	-	0,00	<b>0,00</b>
CMC (1 mg/mL)		-	0,00	<b>0,00</b>	-	0,00	<b>0,00</b>

Lampiran 8. Hasil uji antimikroba fraksi terhadap *S. aureus* dan *Sa.typhmurium*

a. Hasil uji antimikroba fraksi terhadap *S. aureus*



b. Hasil uji antimikroba fraksi terhadap *Sa. typhimurium*



Lampiran 9. Hasil pengukuran zona hambat fraksi terhadap *S. aureus* dan *Sa. typhimurium*

Sampel yang diuji	<i>S. aureus</i>			<i>Sa. typhimurium</i>		
	I	II	X	I	II	X
F1	0,00	0,00	<b>0,00</b>	0,00	2,53	<b>1,27</b>
F2	5,37	5,00	<b>5,19</b>	8,13	7,50	<b>7,82</b>
F3	8,83	8,87	<b>8,85</b>	2,73	3,30	<b>3,02</b>
F4	8,00	8,00	<b>8,00</b>	8,60	8,23	<b>8,42</b>
F5	9,77	9,40	<b>9,59</b>	13,00	13,13	<b>13,07</b>
F6	13,96	14,38	<b>14,17</b>	9,63	9,90	<b>9,77</b>
Kontrol eter	-	0,00	<b>0,00</b>	-	0,00	<b>0,00</b>
Kontrol methanol	-	0,00	<b>0,00</b>	-	0,00	<b>0,00</b>
Kontrol CMC (1 mg/mL)	-	0,00	<b>0,00</b>	-	0,00	<b>0,00</b>
Kontrol amoksisilin (2,5 mg/mL)	-	14,07	<b>14,07</b>	-	13,03	<b>13,03</b>

## RIWAYAT HIDUP PENULIS

Nama Lengkap : Ida Liana  
 Tempat/tanggal lahir : Sukoharjo / 7 Maret 1988  
 Jenis kelamin : perempuan  
 Agama : Islam  
 Status Pernikahan : belum menikah  
 Alamat asal : Gg. Puntodewo I Babat baru RT 03/04, Manang, Grogol,  
 Sukoharjo, Jawa tengah 57552  
 No HP : 085647392317  
 Alamat E-mail : [ida.leeen@yahoo.com](mailto:ida.leeen@yahoo.com)  
 Pendidikan formal :

Tingkat Pendidikan	Nama	Tahun mulai	Tahun selesai
SD	SD Negeri Tegalsari 60 Surakarta	1994	2000
SMP	SMP Negeri 9 Surakarta	2000	2003
SMA	SMA Negeri 4 Surakarta	2003	2006

### Pendidikan nonformal:

Nama Pelatihan/Kursus	Instansi penyelenggara	Tahun
1. Penataran dokter kecil	Dinas Kesehatan Kodya Dati II Surakarta	1997
2. Seminar dan bedah buku	SKI FMIPA UNS	2006
Dimensi Sains dalam Qur'an	HIMABIO	2008
3. Seminar Islami Biologi	Bid. Kemahasiswaan UNS	2009
4. Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Tingkat Dasar	Bid. Kemahasiswaan UNS	2009
5. Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Tingkat Menengah		

### Beasiswa yang diperoleh:

Nama beasiswa	Instansi pemberi	Tahun
Beasiswa BRI	Bank Rakyat Indonesia	2008
Beasiswa Provinsi Jateng	Provinsi Jawa Tengah	2009
Beasiswa BKM	-	2009
Beasiswa Provinsi Jateng	Provinsi Jawa Tengah	2010

Pengalaman organisasi:

Organisasi	Jabatan	Tahun
1. ROHIS SMA NEGERI 4 Surakarta	Staff Departemen Seni dan Budaya Bendahara	2004-2005 2004-2006
2. Karang Taruna Dusun Babat Baru	Staff Departemen Kerohanian Kepala Biro Usaha	2007 2008
3. Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMABIO)	Staff Departemen Kemuslimahan Koordinator Bidang Pembinaan Pengurus	2007-2008 2008-2009
4. Syiar Kegiatan Islam (SKI) FMIPA UNS	Staff Bidang Eksternal Divisi Fund Raising	2009
5. Tim Panitia Renovasi Masjid Nurul Huda UNS		

Pengalaman bekerja:

Pekerjaan	Tahun
1. Asisten praktikum Ilmu Pengetahuan Lingkungan, Biologi Umum, Genetika, Mikrobiologi, Fisiologi Hewan, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan II	2008-2010 2009
2. Magang di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu	2010
3. Tenaga pengajar privat Bimbingan Belajar Al- Fikr	